

ACTA

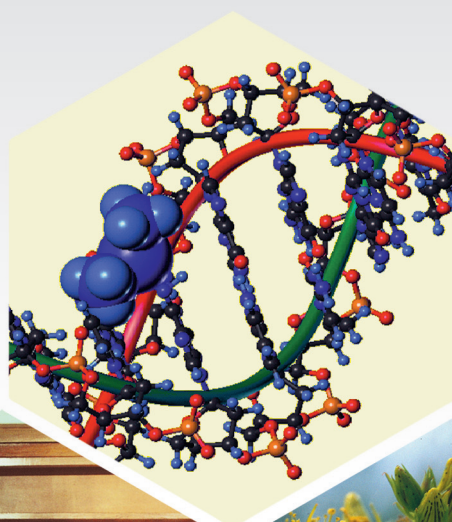
PHARMACEUTICA HUNGARICA

4.

2009

A Magyar Gyógyszerésztudományi Társaság tudományos folyóirata

APHGAO 79, (04) 141-180. (2009)



ACTA PHARMACEUTICA HUNGARICA

A Magyar Gyógyszerésztudományi Társaság folyóirata

Főszerkesztő:

Noszál Béla, Semmelweis Egyetem, Gyógyszerészi Kémiai Intézet
1092 Budapest, Hőgyes E. u. 9.
Tel.: 217-0891;
E-mail: nosbel@hogyes.sote.hu

Felelős szerkesztő:

Zelkó Romána, Semmelweis Egyetem, Egyetemi Gyógyszertár,
Gyógyszerügyi Szervezési Intézet,
1092 Budapest, Hőgyes E. u. 7-9.
Tel.: 217-0927;
E-mail: zelrom@hogyes.sote.hu

A szerkesztőbizottság tagjai:

Báthori Mária, Erős István, Gunda Tamás, Perjési Pál,
Tóthfalusi László

A szerkesztőség címe – Correspondence:

Acta Pharmaceutica Hungarica
1092 Budapest, Hőgyes Endre u. 9.

A főszerkesztő munkatársa:

Hankó Zoltán MGYT,
1085 Budapest, Gyulai Pál u. 16.
Tel.: 235-0999; fax: 235-0998

TARTALOM

<i>Antus Sándor: Biológiaiailag aktív vegyületek kutatása a Debreceni Egyetem Szerves Kémiai Tanszékén 1992 – 2009 között II. rész</i>	143
<i>Laczkó-Zöld Eszter, Zupkó István, Réthy Borbála, Csedő Károly, Hohmann Judit: A Physalis alkekengi termésének és hidrofil anyagainak antioxidáns hatása</i>	169
<i>Horgos József, Kóger Péter, Zelkó Romána: FT-IR alakfelismerő technika alkalmazása gyógyszeralapanyagok minőségellenőrzésére</i>	174

CONTENTS

<i>Antus, S.</i> : Investigation of biologically active compounds at the Department of Organic Chemistry of University of Debrecen between 1992-2009 II.	143
<i>Laczko-Zöld, E., Zupkó, I., Réthy, B., Csedő, K. and Hohmann, J.</i> : Antioxidant activity of the fruits and hydrophilic compounds of <i>Physalis alkekengi</i>	169
<i>Horgos, J., Kóger, P., Zelkó, R.</i> : Application of FT-IR pattern recognition method for the quality control of pharmaceutical ingredients	174

Biológiailag aktív vegyületek kutatása a Debreceni Egyetem Szerves Kémiai Tanszékén 1992-2009 között II.rész¹

ANTUS SÁNDOR

Debreceni Egyetem Szerves Kémiai Tanszék, 4010 Debrecen, Pf. 20
és MTA Szénhidrátkémiai Kutatócsoport, 4010 Debrecen, Pf. 59

E közleménnyel Lempert Károly akadémikust 85. születésnapján köszönti a szerző

Summary

Antus, S.: *Investigation of biologically active compounds at the Department of Organic Chemistry of University of Debrecen between 1992-2009 II.*

The author briefly reviews some important phases of flavonoid chemistry in Hungary with special regard to the results achieved at the Department of Organic Chemistry of University of Debrecen and summarizes the most important synthetic and pharmaceutical results obtained in this field between 1992-2009.

Összefoglalás

A szerző röviden ismerteti a magyar flavonoidkémia néhány fontos mozzanatát, kiemelve a Debreceni Egyetem Szerves Kémiai Tanszékén végzett kutatásokat, és összefoglalja e területen 1992-2009 között elért legjelentősebb szintetikus és farmakológiai eredményeket.

1. Bevezetés

A flavonoidkémiai kutatások hazánkban a M. Kir. József Nádor Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem (a mai Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem) Szerves Kémiai Intézetében Zemplén Géza (1883-1956) akadémikus irányításával a floridzin (1) és a kvercitrin (2) szerkezetfelfedezése kapcsán 1928-ban kezdődtek meg [1] és a negyvenes évek elejére az intézet széleskörű szénhidrátkémiai tapasztalataira [2] támaszkodva nemzetközileg is elismertté váltak. Lebontási reakciókkal és szintézissel igazolták a *Linaria vulgaris* (gyújtóványfű) virágából izolált flavonglikozidok, a linárin (3) és a pektolinarin (4) szerkezetét [3]. A kempferol (5) származékaival történő kémiai korrelációval javaslatot tettek az akácvirágból (*Robinia pseudoacacia* L.) nyert robinin (6) [4] és a hazai termész japánakából (*Sophora japonica* L.) elkülönített szoforabiozid (7) szerkezetére [5] (1. ábra).

E kutatásokba Bognár Rezső (1913-1990) 1939-ben kapcsolódott be, és kezdetben az acetohalogén-cukrok kémijával foglalkozott [6], majd 1941-ben „A linárin és pektolinarin szerkezete és szintézise” című doktori értekezése alapján műszaki doktori címet szerzett [7].

E néhány kiragadott példa is talán meggyőzően tanúsítja, hogy Bognár Rezső akadémikus Zemplén professzorral végzett kutatásai során az oxigéntartalmú természetes szerves anyagok (flavonoidok és szénhidrátok) kutatásában mélyült el. 1950-ben a Debreceni Tudományegyetemre kerülve a Szerves Kémiai Intézet vezetőjeként e kutatásait folytatta, és céljainak kijelölésében bizonyára meghatározó szerepet játszott Rusznyák és Szent-Györgyi azon felismerése is [8], hogy a skorbutban szenvedő kísérleti állatok hajszálereinek sérülékenységét és a fellépő vérzékenységet a kristályos C-vitamin (aszcorbinsav) kevésbé csökkentette, mint az azonos mennyiségű C-vitamint tartalmazó citromlé vagy a paprikából nyert présnedv. A citromléből sárga kristályos anyagként elkülönített citrin is a kísérleti állatok hajszálereinek a permeabilitását jelentősen csökkentette, és ezért ezt az anyagot P-vitaminnak nevezték el. Bruckner és Szent-Györgyi kémiai vizsgálatai alapján az is kiderült, hogy a citrin nem egységes anyag, hanem két flavanonszármazék, a heszperidin (8) és az eriodiktiol (9) keveréke [9]. Hamarosan az is ismertté vált, hogy az ún. P-vitamin hatást a flavonoidok családjába sorolható számos más vegyület is, mint például a japánakác bimbójából nyert flavanol-glikozid, a rutin (10) is mutatja (2. ábra).

Érdekes módon Debrecenben és környékén a nyári hónapokban ez az akácfajta öltözteti sárga

¹ A dolgozat első részében (Acta Pharm. Hung. 79, 95-103, 2009) a tanszék történetét és a mákalkaloidok kémijával kapcsolatos kutatásokat ismertettem. A III. részben a szénhidrátkémiai, a IV.-ben pedig a szerkezetvizsgáló módszerek alkalmazásával elért eredményeket foglalom össze.

floridzin (1)

	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	R ⁵
kvercitrin (2)	A	H	OH	OH	H
linarin (3)	B	H	H	H	H
pektolinarin (4)	B	OMe	H	H	Me
kempferol (5)	H	H	OH	OH	H
robinin (6)	C	H	OB	H	H

A = β -D-glükózil, B = β -D-rutinozil, C = α -L-rhamnozil

szoforabiozid (7)

1. ábra: A *Linaria vulgaris*, *Robinia pseudoacacia* L. és a *Sophora japonica* L. flavonodjai

színbe az utcákat, így kézenfekvő volt, hogy behatóan megvizsgálják e növény különböző részeinek flavonoid tartalmát. A virágából a rutin (10) (24%-os a száraz anyagra vonatkoztatva) mellett számos új vegyületet és már korábban is ismertet, mint például a szoforikozidot (11) sikerült izolálni (2. ábra). A rutin kinyerése szabadalommal védett eljárás [10] és ez alapozta meg a gyógyászatban ma is alkalmazott Rutascorbin® (Tiszavasvári Alkaloida és Gyógyszergyár) kifejlesztését. A szoforikozid (11) izolálása, szerkezetének igazolása és szintézise [11] az izoflavonoidok kémiájával szeléstette a Debrecenben folyó flavonoidkémiai kutatásokat. A flavonoid-glikozidok vizsgálata mellett, amelyek elsősorban a már említett rutinhoz (10) [12,13] és a floridzinhez (1) [14] kapcsolódtak, Bognár professzor úr érdeklődése az ötvenes évek közepétől kezdve egyre inkább a különféle flavonoid alapvegyületek (2'-hidroxikalkon, flaván, flavanon, flavon, 3-hidroxiflavon, auron, izoflavon stb.), valamint nitrogén és kén heteroanalógjaik előállítása és reaktivitásuk vizsgálata felé fordult. E kutatásokról több összefoglaló közlemény is megjelent [15] és ezért a 3. ábrán csak néhány olyan eredményt mutatok be, melyek megalapozták az 1992-2009 között végzett munkánkat is.

2. Eredményeink a flavonoidkémia területén

A kutatásaink a „tisztá kémiai megismerésen túl” e területen is elsősorban a potenciálisan gyógy- és növényvédő hatású flavon, izoflavon és kromon vázas molekulák, valamint N- és S-analógjaik szintéziséhez kapcsolódtak.

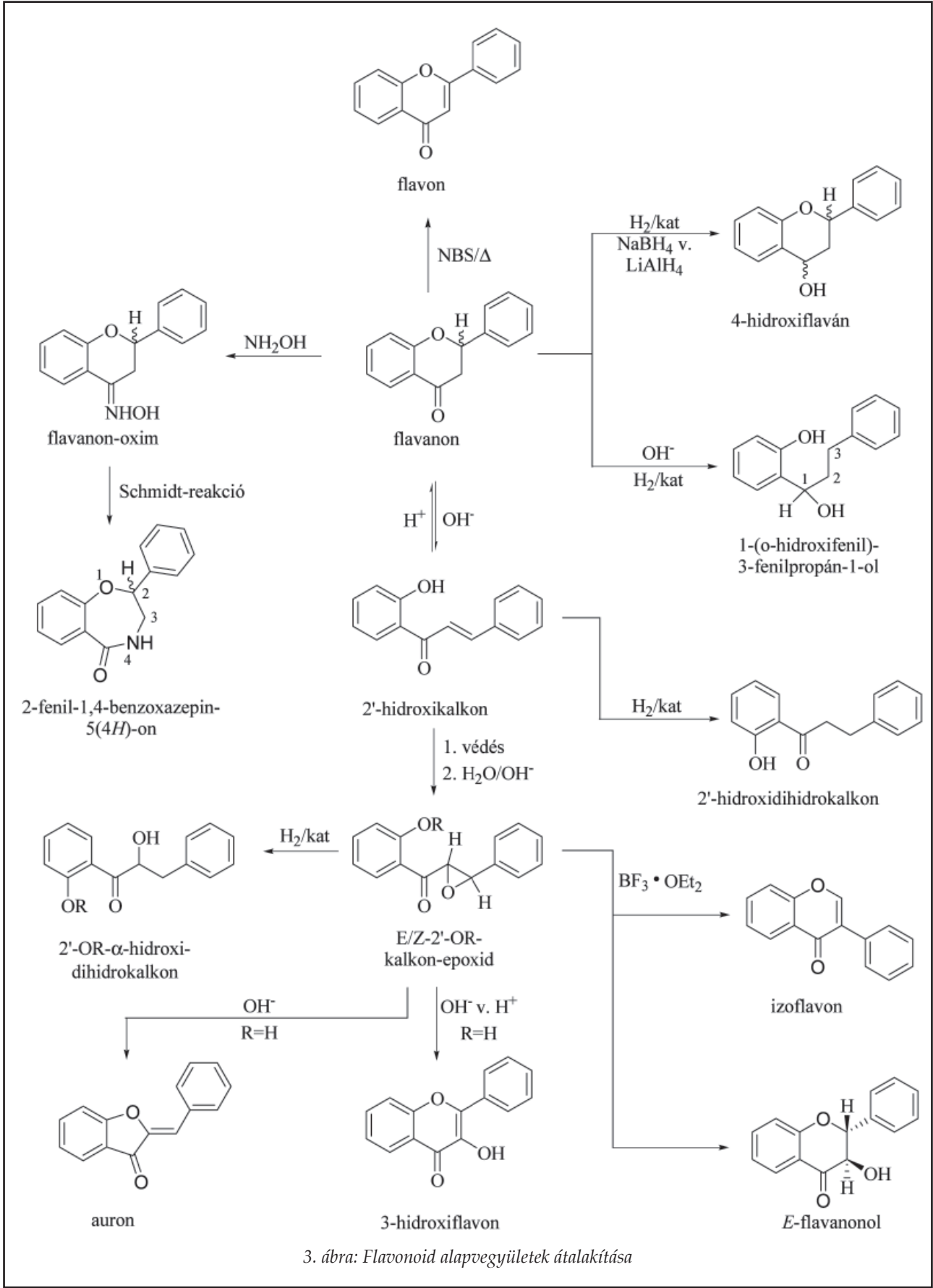
Az izoflavonoidok élettani hatása iránti érdeklődés az 1930-as években tett első megfigyelés óta, és a közelmúltban részben bizonyított ösztrogénhatásuk [16] mellett, antifungális [17], antibakteriális [18] és kígyóméreg elleni [19] hatásuk okán

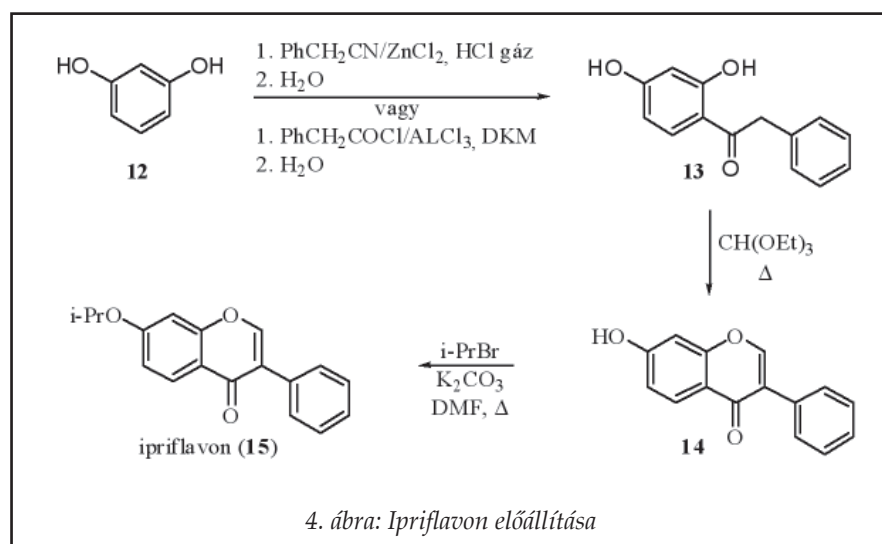
	R ¹	R ²
heszperidin (8)	β -D-rutinozil	Me
eriodiktiol (9)	H	H

rutin (10)

szoforikozid (11)

2. ábra: A citrom és a japánakác „P-vitamin” hatású flavonodjai





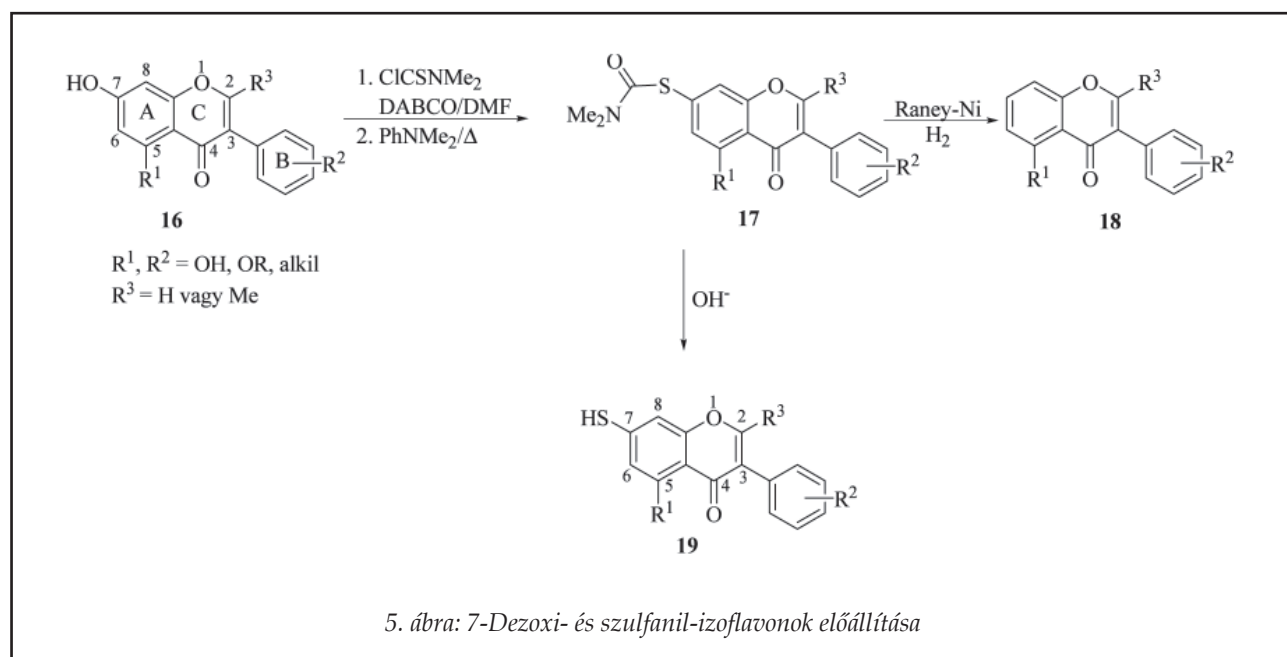
is az elmúlt évtizedekben fokozódott, és ma már az is általánosan elfogadott vélemény, hogy a magas izoflavonoid-tartalmú hüvelyesek, de elsősorban a szója és a szójakészítmények fogyasztásának egészségmegőrző szerepe van. A BME Szerves Kémiai Tanszék Flavonoidkémiai Kutatócsoportjának kutatási eredményeire (12→13→14→15) támaszkodva [20] a 7-izopropiloxiizoflavont (ipriflavon, 15) (4. ábra) első szájon át szedhető csontrikulás elleni szerként 1988-ban Japánban (Osten®), majd 1994-ban Osteochin® (Chinoin) néven hazánkban is bevezették a gyógyászatba, és forgalomba került még Olaszországban (Osteofix®) és Argentínában (Iposten®) is.

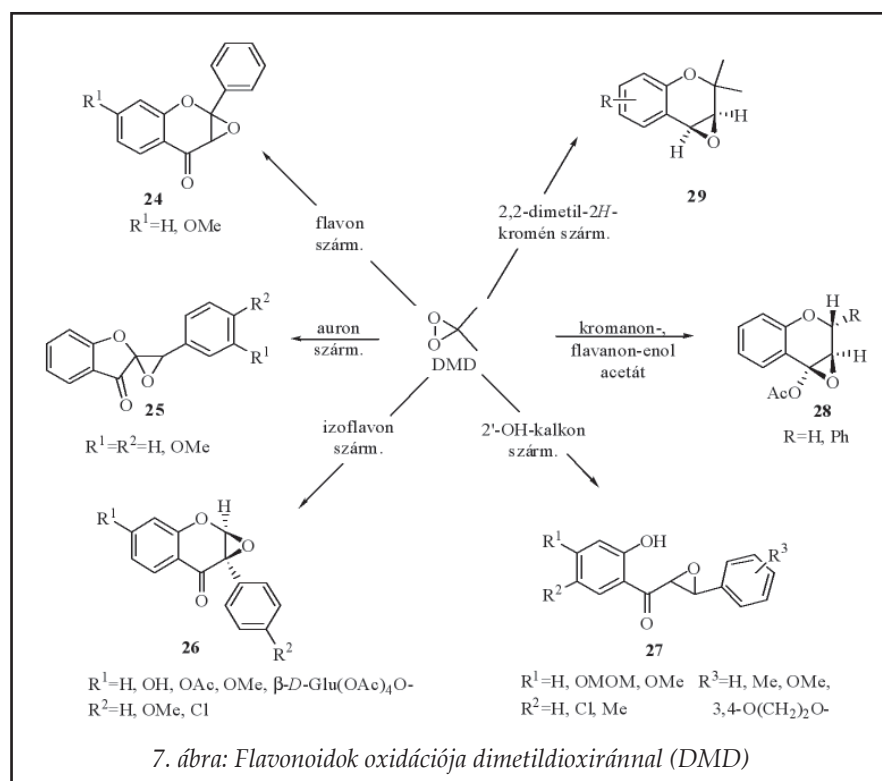
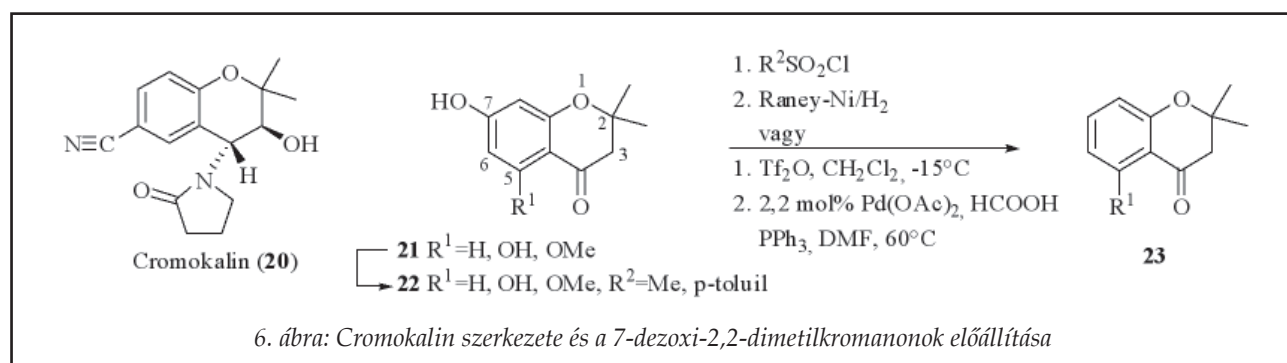
A természetből eddig izolált izoflavonoidok (izoflavanok, izoflavanonok, pterokarpánok, 6a,

11a-dehidropterokarpánok és a kumesztánok) az izoflavonok 7-es helyzetének megfelelő szénatomjukon kivétel nélkül hidroxi- vagy alkoxi (többnyire metoxi) csoport található, de emellett az A-gyűrű más szénatomjai is, – különösen az izoflavonok körében – gyakran 5,7 vagy 5,6,7-helyzetben szubsztituáltak. Ez magyarázza azt a tényt, hogy 7-deoxiizoflavonoidok előállítására alkalmas jó hozamú szintézist az irodalomban 1992-ig nem közöltek. Kwart és Evans [21] által az egyszerű O-aril-N,N-

dialkiltiokarbamátok körében felismert átrendező-dést és Raney nikkellel végzett deszulfurálási módszert a 7-hidroxiizoflavon származékokra (16) alkalmazva [22] nemcsak e hiányt (16→17→18) sikerült pótolni, hanem így az irodalomban eddig még meg sem említett 7-szulfanilizoflavonok előállítására (17→19) is lehetőség nyílt [23] (5. ábra). A sejtek káliumtranszportjának szabályozása révén vérnyomáscsökkentő hatású kromakalin (20) [24] előállítása kapcsán a 7-hidroxikromanonokból (21) könnyen nyerhető metil- vagy p-tolilszulfonátokkal (22) is sikerült ezt a Raney-Ni-el végzett dezoxigenálást megvalósítani [23] (6. ábra).

Említésre érdemes, hogy aktiváló csoportként trifluormetilszulfonil csoportot (Tf) alkalmazva a 6. ábrán bemutatott dezoxigenálás (21→23) katali-



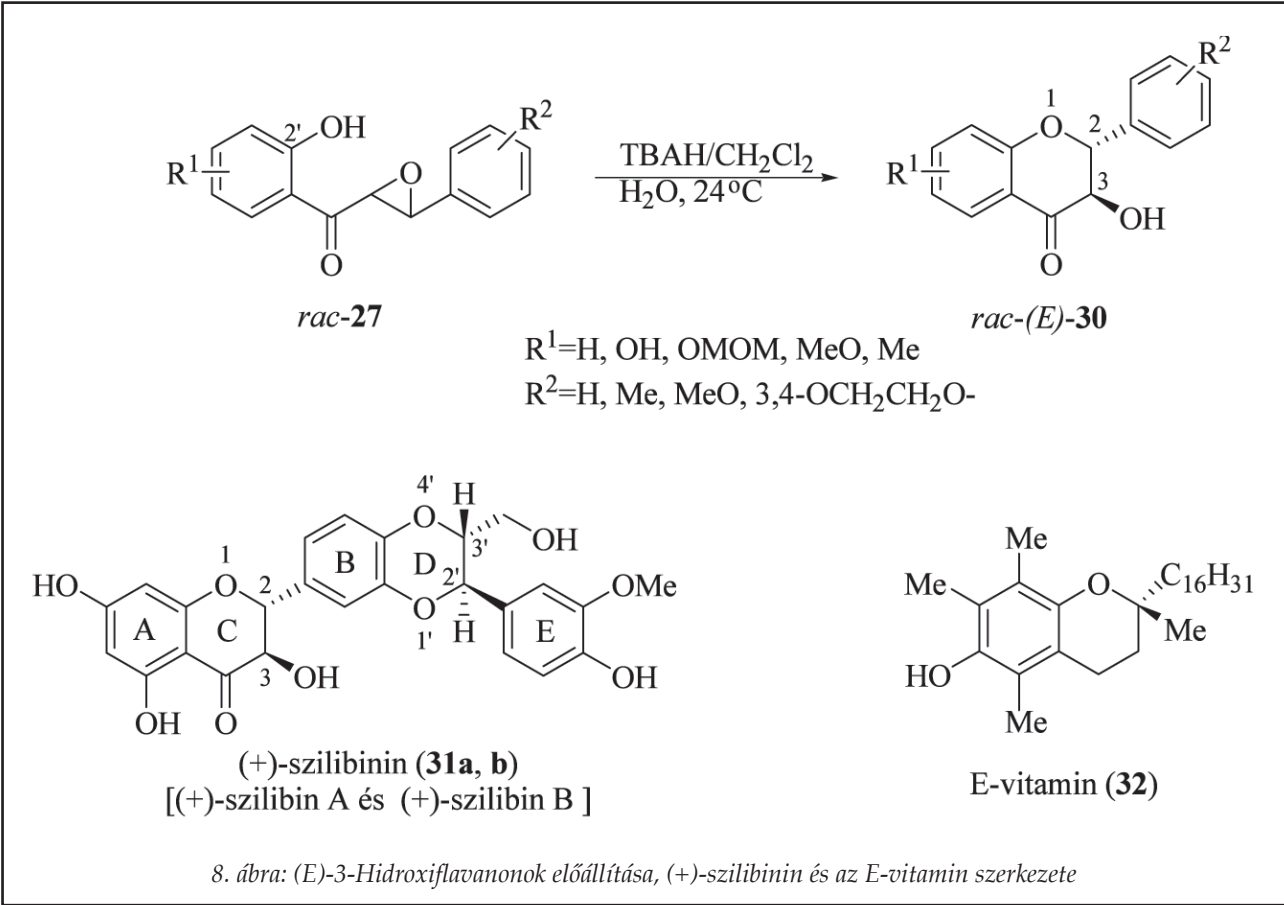


tikus mennyiségben alkalmazott Pd(0)-al is magas hozammal (90-93%) játszódt le [25]. Ez utóbbi módszer előnye, hogy a flavonoidok széles körében, így izoflavonok és kromanonok mellett a kalkonok, flavonok, kumarinok esetében is alkalmazható.

A flavonoidkémia területén is új távlatokat nyitott meg az acetontól kálium monoperoxoszulfáttal [2KHSO₅/KHSO₄/K₂SO₄ Caroate®, Degussa AG. (Hanau)] könnyen előállítható, az elektronban gazdag és szegény alkének magas hozamú epoxidálására használt új oxigén-transzfer, a dimetildioxirán (DMD) [26] alkalmazása. E reagens feleslegével alacsony hőmérsékleten (-15 – 0 °C), semleges közegben, 90% feletti hozammal a flavonokból [27] auronokból, izoflavonokból [28] 2'-hidroxi-kalkonokból [29] kromanonok és flavanonok enolacetátjaiból [30] és 2,2-dimetil-2H-kromének-

ből [31] a megfelelő epoxidok (24-29) keletkeztek (7. ábra). E szintetikus átalakítások értékét számottevően növelte, hogy az izoflavonok, kromanon és flavanon enolacetátok, valamint a 2,2-dimetil-2H-kromének epoxidálása a kereskedelemben is könnyen hozzáférhető katalitikus mennyiségű királis, nem racém Mn(II)-salen komplex (Jacobsen katalizátor) jelenlétében nagymértékű (ee% > 95%) enantioszelektivitással játszódott le [31] (7. ábra).

Az így nyert epoxidok regio-szelektív felnyitásával olyan reaktív intermedierek keletkeztek, melyek továbbalakulása biológiailag aktív O-heterociklusok jó hozamú szintézisét tette lehetővé. Ezt a 8. ábrán feltüntetett *transz*-3-hidroxi-flavanonok (30) magas hozamú (55-74%) előállításával szemléltettem [32]. Ez a gyűrűrendszer ismerhető fel a lilavirágú máriatövis (*Silybinum marianum* L.) terméséből izolált flavanolignánban a (+)-szilibinben is (31a vagy b) [33]. E vegyület – az izomerjeihez [(+)-izoszilibin, (+)-szilikrisztin és (+)-szilidianin] hasonlóan – a (+)-2R, 3R-taxifolinból (35) és a koniferil-alkoholból (36) peroxidáz enzim hatására keletkezik a máriatövisben (11. ábra). Az izolálásukat követően, a 70-es évek végén e flavanolignánok tisztított keverékét a kölni Madaus cég Legalon® néven hatékony májvédő szerként vezette be a gyógyászatba. Megjegyzendő, ez a gyógyszer mind a mai napig forgalomban van és a hatóanyagai közül a leghatékonyabb származék a (+)-szilibin (31a,b), melynek vízzoldható származékai (Legalon SIL és Silipide) mint életmentő injekciós készítmények az európai előírások szerint

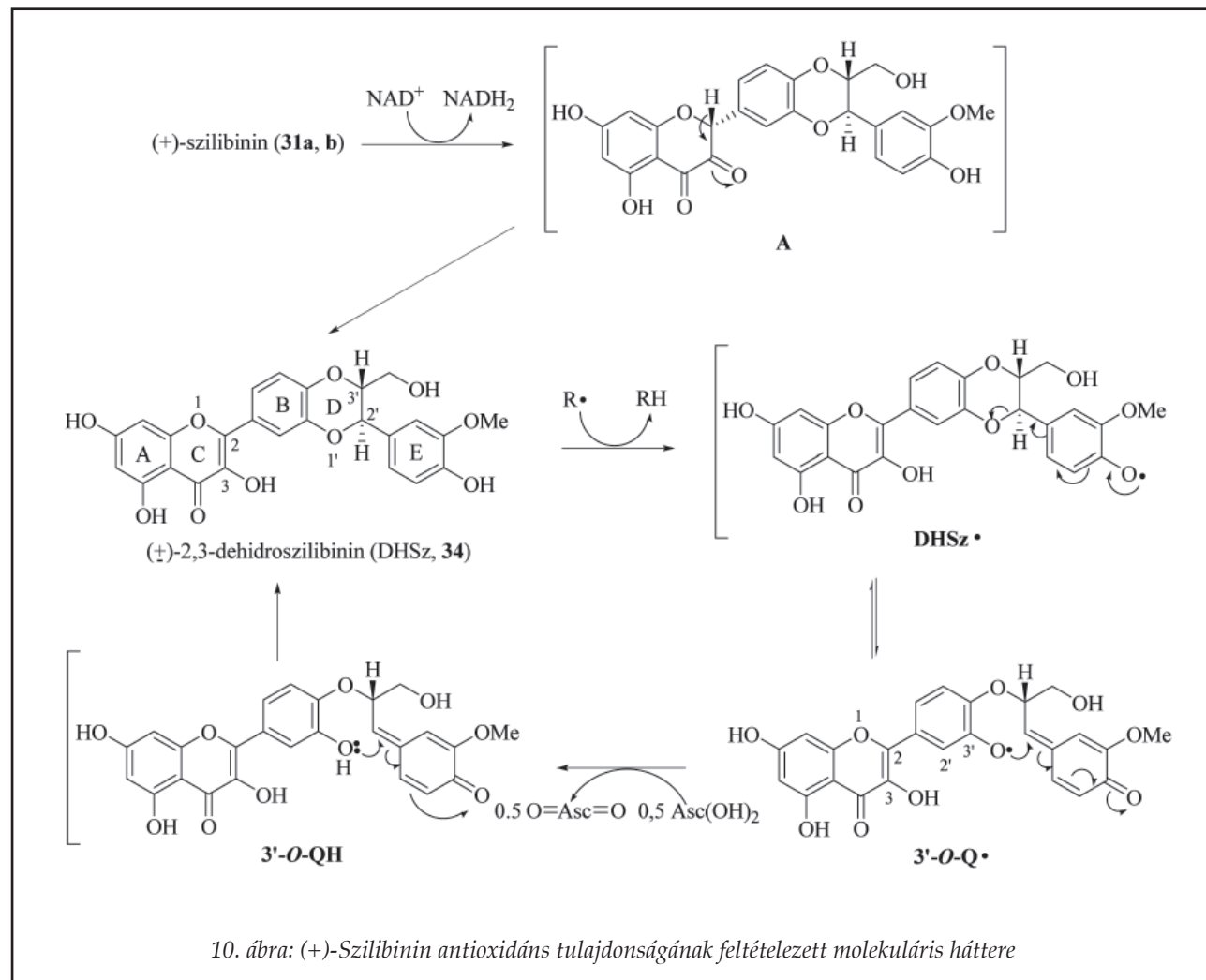


(xantinoxidáz, proteinkináz C, citokrom P-450) aktivitásának gátlásával az E-vitaminhoz [α -tokoferol, (32)] hasonlóan, mérsékelik a toxin által kiváltott ún. oxidatív stresszt, amely a sejtmembrán foszfolipid és lipoprotein (LDL: low density protein) állományának károsodásához és végül májsejtek pusztulásához vezet [38].

A hatás-szerkezet összefüggéseket feltáró vizsgálataink [39a,b] arra is fényt derítettek, hogy a PMNL-ák szuperoxid-anion (O_2^-) termelését a (+)-szilibinin (31a,b) és szerkezetbizonyító szintézissel előállított racém 33a flavanonszármazék (9. ábra) közel azonos mértékben gátolta (O_2^- termelés gátlásának mértéke %=Legalon®: 72 ± 8 ; (+)-szilibinin (31a,b): 84 ± 9 ; rac-33a: 82 ± 14). Ez arra utalt, hogy a szilibinin (31a,b) C-3 hidroxil- és C-2' 3-metoxi-4-hidroxifenilcsoportjainak elhagyása – jó egyezésben az irodalomban leírttal – ezen körülmények között nem okozott számottevő hatás-csökkenést. Lotter ugyanis a (+)-szilibinin (31a,b) és az antamanid (ciklooktapeptidszármazék,

melyről állatkísérletekben igazolták, hogy hatékony az *Amanita phalloides* mérge ellen) röntgenadatainak összevetése alapján megállapította [36], hogy a (+)-szilibinin (31a,b) a májsejtek membránjához való kötődésben az A- és B-gyűrűjének meghatározó szerepe van. Említésre érdemes, hogy a vizsgálataink szerint a hidroximetilcsoportot viselő kiralitás centrum konfigurációja csak csekély mértékben befolyásolta a molekula biológiai aktivitását [(–)-2'S-33b: $75 \pm 10\%$], ugyanakkor a kromanongyűrű kiralitáscentrumának eltávolítása (rac-33a \rightarrow rac-33e) számottevő hatásnövekedést eredményezett. Az így nyert 33e flavonszármazék az E-vitaminnal (32) ($59 \pm 11\%$) megegyező gátló hatást mutatott.

A humán neutrofilek O_2^- termelését a citoszolból a sejtfalon át vándorló protein kináz C enzim aktivitás növekedése határozza meg. A 25 μ M-os szubsztrátum koncentrációnál mért enzim gátlási sorrend [39c,d,e)] [(+)-szilibinin (31a,b) \approx rac-33a < rac-33c < rac-33d] arra utalt, hogy a molekulák



lipofilitásának fokozása a sejtalba történő beépülését segítette elő. Ezt a xantin oxidáz enzim gátlásának IC_{50} értékei is alátámasztották [IC_{50} (μM) = (+)-szilibinin (**31a,b**) = 32.2; *rac*-**33a** = 25.1; *rac*-**33c** = 9.6; *rac*-**33e** < 0.5]. A kromanon gyűrű „dehidrogénezése” ez esetben is számottevő aktivitásnövekedésről tanúskodott. A citokrom C enzim redukciójának xantin oxidáz enzim jelenlétében történő mérésével azt is sikerült igazolni, hogy a vizsgált vegyületek O_2 -gyökfogó képessége a fenolos hidroxilcsoportok számától és a C-gyűrű oxidáltsági fokától erősen függ [IC_{50} (μM) = (+)-szilibinin (**31a,b**): 58.3; *rac*-**33a**: 71.7; *rac*-**33d**: 80.3; *rac*-**33e**: < 7.2]. Ismeretes, hogy a sejtek membránját alkotó lipoproteineket (LDL), nagymértékben a hem által kiváltott lipidperoxidációban keletkezett hidroxil gyökök (HO^\bullet) károsítják. A vizsgálataink szerint a (+)-szilibinin (**31a,b**) és rokonvegyületeik (**33a-f**) 50 μM koncentrációban már hatékony védelmet nyújtottak [%-os HO^\bullet befogás: (+)-szilibin (**31a,b**): 50.1; *rac*-**33a** = 84.5; *rac*-**33e** \approx **33f** : 20.1]. Jó egyezésben az irodalomban közöltekkel [40], ezek az adatok is azt mutatják, hogy a kettős kötés bevezetése a C-gyűrűbe a molekula antioxidáns hatását számottevően fokozza.

Ezen eredmények alapján feltételezhető, hogy a (+)-szilibinin (**31a,b**) tulajdonképpen „prodrug” és a felszívódását követően a NAD^+ enzim a C-3 helyzetű hidroxilcsoportját gyorsan ketocsoporttá oxidálja (**31a,b** \rightarrow **A**), melynek enolizációjával alakul ki az antioxidáns hatásért leginkább felelős 3-hidroxi flavon szerkezetű racém 2,3-dehidroszilibinin (DHSz, **34**) (10. ábra). E vegyületből, ha az E-gyűrűjének hidroxilcsoportja közömbösíti a reaktív oxigén intermediereket (R^\bullet), akkor a megfelelő ariloxi gyök (DHSz $^\bullet$) keletkezik, melynek „agresszivitását” az O-1', C-2' kötésének homolitikus hasadásával keletkező kinon-metid oldal-láncot viselő 3'-O-kvercetin gyökké (3'-O- Q^\bullet) történő átalakulás nemcsak mérsékeli, hanem kellő mennyiségű C-vitamin [$Asc(OH)_2$] jelenlétében meg is szünteti (10. ábra). Az ugyanis a 3'-O- Q^\bullet gyököt könnyen a 3'-O-QH kvercetinszármazékká redukálja, melyből a fenolos hidroxilcsoport addíciójával a racém 2,3-dehidroszilibinin [(\pm)-**34**] újra keletkezik. E vegyület (**34**) antioxidáns tulajdonságát így nemcsak A- és B-gyűrűinek szubsztituáltsága, hanem a C-gyűrű által aktivált E-gyűrűjéhez kapcsolódó 3-metoxi-4-hidroxifenilcsoport is számottevően befolyásolja. A májkárosodást okozó ROI-k „eltakarítását” leghatékonyabban a (+)-szilibininből (**31a,b**) keletkező 2,3-dehidroszilibinin [(\pm)-**34**] ún. gyökbefogással végzi. Az

elmúlt két évtizedben az is ismertté vált, hogy a sejtek különféle tumoros elváltozásaiban ROI-k is fontos szerepet játszanak. Ezt valószínűsítik azok a közlemények is, melyekben a (+)-szilibinin (**31a,b**) figyelemre méltó rákellenes hatásáról számoltak be [41].

Említésre érdemes, hogy a 3'-O- Q^\bullet típusú kinon-metid szerkezetű intermedier (KMI) a flavanolignánok bioszintézise során is keletkezik. A (+)-szilibinin (**31a,b**) 1,4-benzodioxán gyűrűrendszere a bioszintézis során – mint már említettem – a (+)-2R, 3R-taxifolin (**35**) 3',4'-helyzetű oxigénatomjai és a koniferil-alkohol (**36**) α - és β -szénatomjai közötti peroxidáz enzim katalizált gyökös reakcióban alakul ki, és ennek megfelelően a szilibin A (**31a**) és B (**31b**), valamint az izoszilibin A (**31ia**) és B (**31ib**) azonos mennyiségben keletkezik (11. ábra).

A máriatövis (*Silybinum marianum* L.) hazánkban is nagyon elterjedt növény, de érdekes módon a virága nem lila, hanem fehér. E szembeötlő morfológiai különbség a termésének flavanolignán tartalmában is tükröződik. E növényből először az 1,4-benzodioxán vázas flavanolignánok közül a (-)-szilandrint sikerült elkülönítenünk, melyet spektroszkópai vizsgálatok és teljes szintézise alapján 3-dezoxiizoszilibin A-ként (**36a**) azonosítottunk [42]. Ez arra utalt, hogy a fehérvirágú máriatövisben a bioszintézis során nem a (+)-taxifolin (**35**), hanem az (-)-eriodiktiol (**9**) keletkezett, és ennek koniferil-alkohollal (**36**) történő oxidatív kapcsolása – jöllehet gyökös mechanizmusú – de mégis enantioszelektív. E kemotaxonómiai érdekességen túlmenően a kutatás folytatását ösztönözte az is, hogy Wagner és mtsai [43] beszámoltak arról, hogy az ún. Hikino-féle *in vitro* teszten a szén-tetrakloriddal vagy galaktozaminnal kiváltott májkárosodást a (-)-szilandrin (**36a**) hatékonyabban védte ki, mint a (+)-szilibinin (**31a,b**). Ez keltette fel Nyíredy Szabolcs akadémikus (1949-2006) érdeklődését is, és ezt követően hatékonyan segítette e területen végzett kutató munkánkat a nemzetközileg is elismert kromatográfiai tapasztalataival. Így került sor a fehérvirágú máriatövis további flavanolignán komponenseinek, a (-)-2S, 2'R, 3'R-izoszilandrinnak (**36ia**), (2S, 2'R, 3'S)-ciszilandrinnak (**36ca**) és 2S, 2'R, 3'S-izociszilandrinnak (**36ica**) az izolálására és szerkezetigazolására [44]. Az utóbbi izomerek keletkezése, ha közvetett módon is, de egyértelműen azt bizonyította, hogy a bioszintézis O- β -kapcsolással keletkező intermedierje (KMI) valóban kinon-metid szerkezetű, melyből a hidroxilcsoport termodinamikai

mazékok – a megfelelő konfigurációjú *cis*z izomerek mellett – mint főtermékek 1:1 arányban keletkeznek. Jelentős különbség van viszont a különböző genusok *transz*-izomereinek (főkomponensek) kristályosodási készségében. Míg a lilavirágú változatból nyert (+)-szilibinin A és B, valamint (+)-izoszilibinin A és B parciális racemátként együtt kristályosodnak, addig a fehérvirágú változatban keletkező diasztereomerek [(-)-szilandrin A és B, (-)-izoszilandrin A és B] nemcsak HPLC-vel [35, 45], hanem gondos frakcionált kristályosítással is elkülöníthetők. [42a,b, 44]

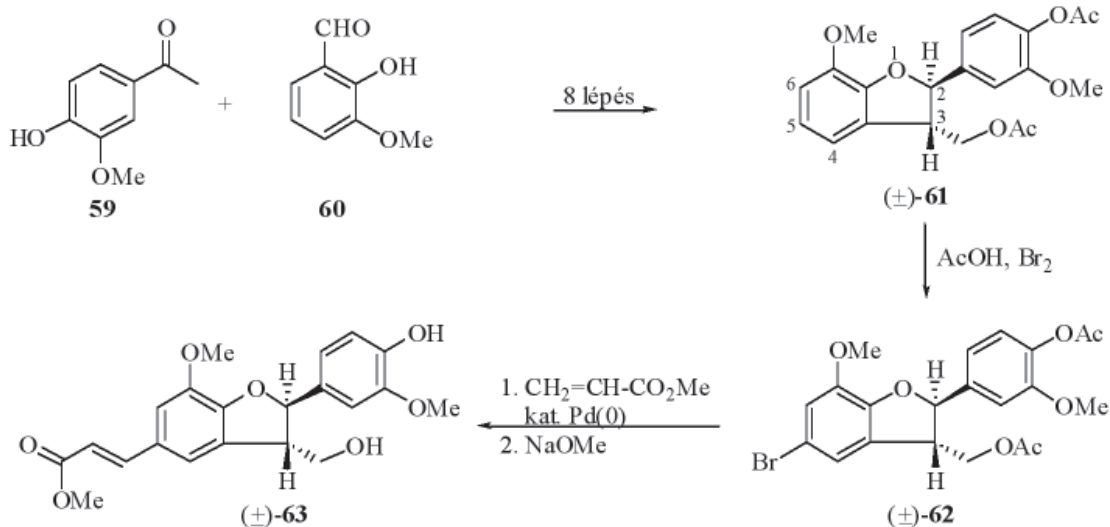
Érdekes eredményt kaptunk a fehérvirágú változat 1,4-benzodioxán vázas fő komponenseinek antioxidáns tulajdonságát illetően is [44a]. A PMNL-ák O_2^- termelését e vegyületek $[O_2^- \text{ term.}\% \text{ inhib.}: 36a (74 \pm 15), 36ia (50 \pm 7)]$ ugyanis hatékonyabban gátolták, mint a (+)-szilibinin [31a,b, (84 \pm 9)]. Erről tanúskodtak a szintézissel nyert racemátjaik inhibíciós adatai is [*rac*-36a,b (72 \pm 13), *rac*-36a,b (61 \pm 6)]. Ez utóbbiak is jó egyezésben a fentebb már említettekkel [39d] azt igazolták, hogy e biológiai sajátságot az 1,4-benzodioxán váz kiralitás centrumainak abszolút konfigurációja csak kis mértékben befolyásolja.

A racém szilandrin (*rac*-36a,b) és izoszilandrin (36ia,b) szintézisét biomimetikus úton valósítottuk meg. 1989-ben beszámoltunk arról, hogy a könnyen hozzáférhető kávésav-etil-észterből (37) a koniferil-alkohollal (36) az oxidálószer megfelelő megválasztásakor nagy regioszelektivitással a racém 2- vagy a 3-aril-1,4-benzodioxánszármazék [(±)-38, (±)-39] keletkezett [46] (12. ábra). Ezekből három lépésben a megfelelő 2'-hidroxikalkonokat [(±)-40, 41] állítottuk elő, melyek két lépésben flavanonná történő izomerizálása a racém szilandrinhoz (±-36a,b) [42d] és izoszilandrinhoz (±-36ia,b) [44a] vezetett.

E vegyületekből a 3. ábrán is már bemutatott egyszerű dehidrogénezéssel jutottunk a *Hydnocarpus wightiana* és *Onopordon corymbosum* flavanolignán komponenseihez, a hidnokarpinhoz [(±)-42] és a pszeudohidnokarpinhoz [(±)-43] is. A várakozásunkkal egyezően ezen flavanolignán származékok a PMNL-ák O_2^- termelését a megfelelő flavanonszármazékoknál [(±)-36, 36ai] hatékonyabban gátolták. Talán azt sem érdektelen megemlíteni, hogy e vegyületek 25-30 μM -os koncentrációban mért aktivitása a humán plazmában az egészséges táplálkozáskor jelenlevő E-vitaminéval (32, O_2^- gátlás % = 59 \pm 6) egyezett meg.

A hidnokarpin [(±)-42] szintézisét a (±)-40 2'-hidroxikalkonból kiindulva két lépésben [(i)

PIDA/MeOH, KOH, (ii) H^+] is megoldottuk. Megfigyeltük ugyanis, hogy ez a ciklodehidrogénezés metanolban, kálium-hidroxid jelenlétében a kereskedelemben is kapható környezetbarát elektrofil reagenssel, feniljodozónium-diacetáttal (PIDA) is, enyhe körülmények között (24 °C) magas hozammal elvégezhető (13. ábra). A reakció első lépésében az elektrofil reagens hatására a gyűrűzárás (44→45) történt, és az így keletkező jodozónium intermedier a metoxid anionnal az A-gyűrű elektronküldő szubsztituenseinek köszönhetően nem a karbonilcsoportján (45→47), hanem a C-2 hidrogénjével reagált és így eliminációval a megfelelő flavonszármazék, a hidnokarpin [(±)42] keletkezett. Ezen az úton nemcsak a pszeudohidnokarpint [(±)43], hanem további antioxidáns hatású természetes eredetű flavonszármazékot is magas hozammal állítottunk elő, így pl. a krizint (46a), baikaleint (46b), apigenint (46c) és luteolint (46d) is (44a-d → 45 → 48a-d) [47]. Említésre érdemes, hogy ezek a csekély toxicitású vegyületek potenciális farmakonok az AIDS elleni küzdelemben [48]. A leghatékonyabb a krizin (46a) [IC_{50} (EC_{50}) = 35 (5) μM , AZT (3'-azido-3'-dezoxitimidin) = 200 (0.04)] [48]. E módszerrel valósítottuk meg a vérlemezék aggregációját gátló yinyanghou-C (49a) és kanzonol-E (49b) szintézisét is [49] (14. ábra). Az a tény, hogy a 48b kalkonszármazék a PIDA-val regioszelektíven a karbonilcsoport által aktivált kettős kötéson reagált és az erősen bázikus közegben (metanol, KOH) az 50 szemi-kinol nem keletkezett, a bázis szerepére irányította a figyelmünket. Pelter és Elgendy már 1993-ban megfigyelték [50], hogy metanolban az *o*- vagy *p*-szubsztituált fenolokból (51) a tallium(III)-nitráthoz hasonlóan [51] a PIDA-val is magas hozammal (> 90%) a megfelelő ciklohexadién származékok (52a vagy 52b) nyerhetők. Erről az egyszerű dearomatizációs átalakulásról kimutattuk, hogy a második lépésében a fenoxéniumion (51 → A → B) keletkezik, amely a megfelelő szénatomján készségesen reagál a nukleofil metanollal [52] (15. ábra). Ezt használtuk ki az *Asarium taitonense* Hayeta-ból izolált [53a, b] leukémia ellen hatásos neolignánszármazék, az azaton [(±)-55] előállításánál [54]. Az „egy-lombik” reakcióban magas hozammal a mezoméria által stabilizált fenoxéniumion (53 → A → B), majd az 54 szemi-kinol keletkezett, melynek Diels-Alder típusú dimerizációja az azatonhoz vezetett (54 + 54 → 55) (16. ábra). E vegyületet 22%-os nyeredékkal kristályos formában izoláltuk. Talán nem érdektelen megemlíteni, hogy előállítását Yamamura és mtsai [53c] az 53 fe-



18. ábra: A zsidótövis vérnyomáscsökkentő hatású neolignán komponensének előállítása

se kapcsán mutatom be (18. ábra). A vegyületet a zsidótövisből (*Zyziphus jujuba* Mill.) 1986-ban izolálták [56], melynek a szerkezetét koniferil-alkoholból (**36**) kiindulva szerkezetbizonyító szintézissel 1989-ben igazoltuk [57]. Az új szintézisünket az *o*-vanillinből (**60**) és acetovanillinből (**59**) Brunow és Lundquist által közöltek [58] szerint 8 lépéses szintézissel nyert racém dihidrobenzo[b]furan származék **[(±)-61]** S_E reakciókban várható reaktivitására alapoztuk. A kvantumkémiail számításaink (Mulliken töltéeloszlás és szuperdelokalizáció számítás) ugyanis azt mutatták, hogy e vegyület bromozásakor főtermékként a C-5 brómszármazék **[(±)-62]** keletkezik. Ecetsavban szobahőmérsékleten valóban ezt kaptuk meg, és 80%-os nyeredéssel kristályos formában izoláltuk a kívánt vegyületet **[(±)-62]** (18. ábra). A célvegyület oldalláncát Pd(0) -val katalizált ún. Heck-féle kapcsolással alakítottuk ki, majd az acetyl védőcsoportok Zemplén-féle elszappanosításával jutottunk a zsidótövis neolignán komponenséhez **[(±)-63]** [69].

A Heck reakciót használtuk a *Bothrops atrox* (közönséges lándzsakígyó) toxinja ellen hatásos (-)-cabenegrin A-I (**64**) (bigli kutyán 1 mg/kg i.v.) [19] teljes szintézisének is. Ezt a prenilizett pterokarpánszármazékot és a rokonvegyületét, a (-)-cabenegrin A-II-t (**65**), Nakanishi és mtsai 1982-ben izolálták a Dél-Amerikában honos „Cabeca de Negra” gyökerének alkoholos kivonatából [19] (19. ábra). E vegyületek közül az (*E*)-hidroxiprenil csoportot tartalmazót találták számottevően hatékonyabbnak, melynek teljes szintézisének a pte-

rokarpán váz felépítésére Horino és Inoue által a pterokarpánok előállítására elsőként leírt ún. Heck-oxiarilezési reakciót [60] használtuk. Erre azért is gondoltunk, mert Breytenbach és Rall [61] a racém maackiain **[(±)-66]** előállítását ezzel a módszerrel oldották meg. A 7-benziloxi-2*H*-kroménből (**68**) és 2-klórmerkuri-4,5-metiléndioxifenolból (**70**) [a kereskedelembe hozzáférhető 3,4-metiléndioxifenolból $\text{Hg(OAc)}_2/\text{LiCl}$ -al 90%-os hozammal nyerhető] lítium-tetrakloropalladát jelenlétében 66%-os kitermeléssel a racém benzilmaackiain **[(±)-71]** kapták meg (20. ábra), majd a benzilcsoportot katalitikus hidrogénezéssel eltávolítva jutottak a *Sophora japonica*-ból is izolálható racém maackiainhoz **[(±)-66]**. A reakció alapos vizsgálata megmutatta, hogy a benzilmaackiain **[(±)-71]** mellett számos más termék is keletkezett, melyek közül két izomerjét **[(±)-72, -73]** sikerült elkülönítenünk. Ezek keletkezése arra utalt, hogy az irodalomban leírtakkal [60, 61] ellentétben, a 2*H*-kromének Heck-oxiarilezési reakciója nem regioszelektív és a C-gyűrű szén-oxigén kötése a megfelelő karbokationból a fenolos hidroxilcsoporttal történő reakcióban alakult ki. A főtermékként (53%) kapott racém benzilmaackiain **[(±)-71]** katalitikus debenzilezése **[(±)-71** → **(±)-66**, 92%], – jöllehet a molekula C-11a - O kötése benzil helyezett – nem jelentett problémát.

Kihasználva a kapott vegyület hidroxilcsoportjának könnyű funkcionizálhatóságát, a sikeres rezolválás reményében számos királis induktort vezettünk be. Ezek közül csak a *S*-(-)- α -metilizocianáttal kapott diasztereomer karbamátok (-)-1*S*,

	R ¹	R ²
(-)-cabenegrin A-I (64)		OH
(-)-cabenegrin A-II (65)	H	
(±)-maackiain [(±)-66]	H	OH
(-)-67a	H	(S)-Ph(Me)CHNHCOO
(+)-67b	H	(R)-Ph(Me)CHNHCOO

19. ábra: (-)-Cabenegrin A-I és rokon vegyületeik szerkezete

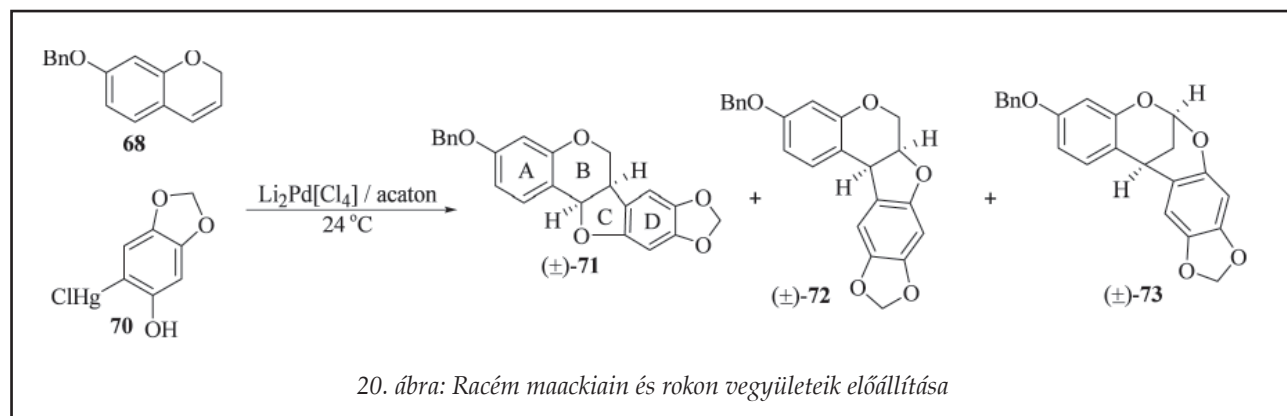
6aR, 11aR-**67a**, (+)-1S, 6aS, 11aS-**67b** frakcionált kristályosítással történő elválasztását tudtuk megvalósítani. A balra forgató karbamátból [(–)-**67a**] LiAlH₄-es redukcióval az optikailag tiszta (ee% = 99,5%) balra forgató maackiainhoz [(–)-**66**] jutottunk, melyhez a CD színe alapján – felhasználva az általunk felismert összefüggést [62] – a 6aR, 11aR abszolút konfigurációt rendeltük.

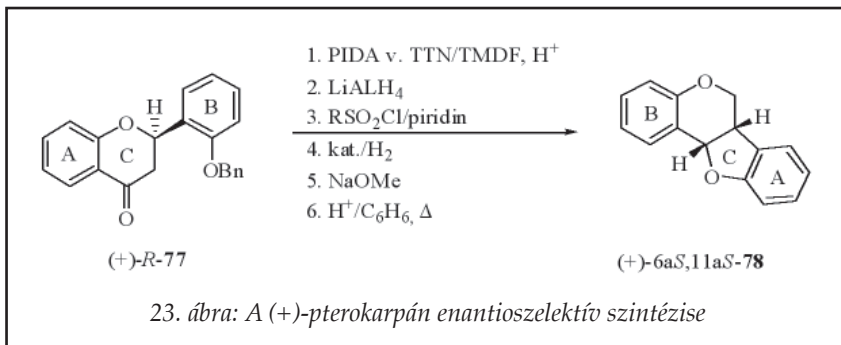
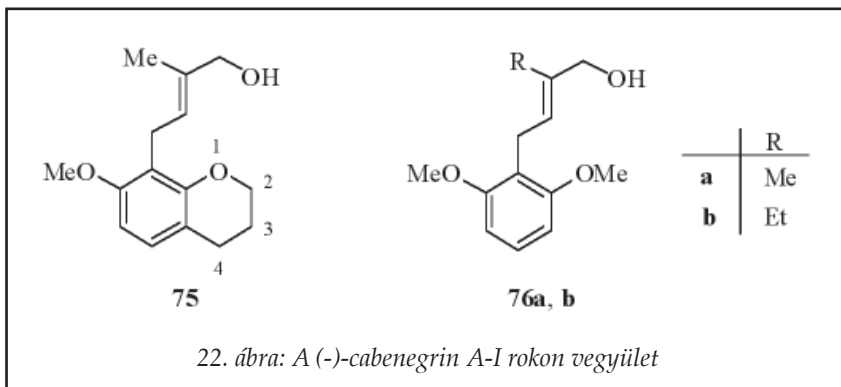
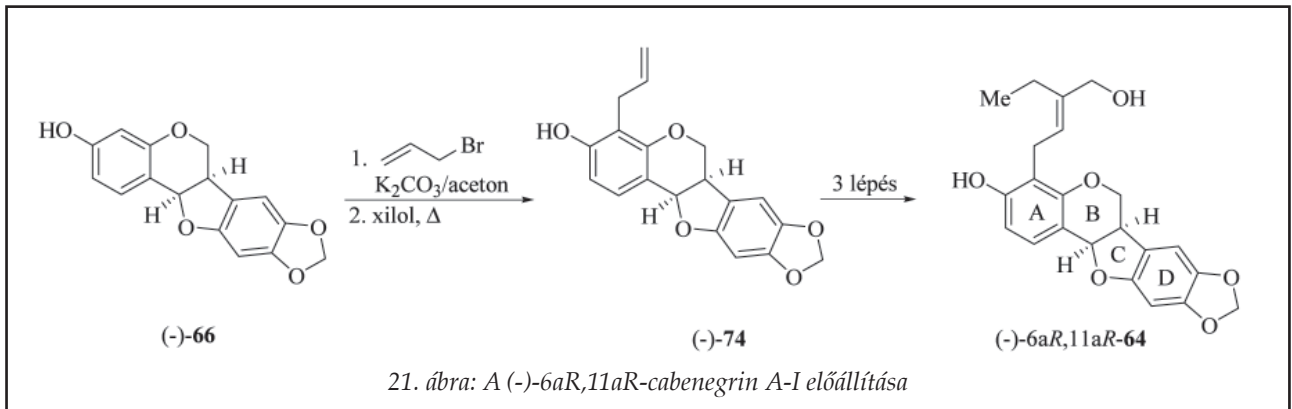
E vegyületből két lépésben jutottunk a (–)-4-allilmaackiainhoz [(–)-**74**], melynek oldalláncaiban levő kettőskötésen három lépésben sztereoselektíven építettük ki a metil- és hidroximetilcsoportot. Minthogy az így kapott vegyület fizikai adatai (op, UV, NMR, CD) *Nakanishi* és *mtsai* [19] által megadottakkal egyezett, így a szintézisünkkel e természetes anyag szerkezete és az abszolút konfigurációja is igazolást nyert [63] (21. ábra).

A hatás-szerkezet összefüggések feltárásához számos, a (–)-cabenegrin A-I (**64**) A és A+B gyűrűjét magában foglaló analogját állítottuk elő. A hím BALB/C egereken az LPS-el (5 mg/kg) kiváltott sokkban termelődő tumor nekrozis faktor (TNF-α) inhibíciójának mérése pedig azt mutatta, hogy e természetes anyag hatásáért elsősorban a molekula kromán része és az (E)-geometriájú hidroxiprenillánca a felelős. A racém cabenegrin A-I [(±)-**64**] hatását (dózis: 5,4 mmol/kg × 10⁻⁴; TNF-α inh. % = 18 ± 3) ugyanis a **75** krománszármazéké (dózis: 16,1 mmol/kg × 10⁻⁴; TNF-α inh. % = 6 ± 2) kö-

zelítette meg legjobban (22. ábra). Ezt igazolta az is, hogy ha a kromán C-gyűrűjének 3,4-helyzetű CH₂ csoportjait elhagytuk (**76a**, dózis: 18,0 mmol/kg × 10⁻⁴; TNF-α inh. % = 10 ± 7), valamint e vegyület (E)-geometriájú oldalláncaiban levő metilcsoportot etilre cseréltük (**76b**: dózis: 16,9 mmol/kg × 10⁻⁴, TNF-α inh. % = 76 ± 15) a hatás egyértelműen csökkent. [64]

A cabenegrin A-I [(–)-**64**] nagyobb léptékű előállításának a racém maackiain [(±)-**66**] rezolválásának alacsony hozama szabott korlátot. Jóllehet a tallium és hipervalens jód segítségével kémiai tapasztalataink [65] alapján magas hozamú 6 lépéses kémiai korrelációt sikerült kidolgozni a (+)-2R-2'-benziloxiflavanon [(±)-**77**] és a (+)-6aS, 11aS-pterokarpán [(±)-**78**] között [66] (23. ábra), ezt az utat a maackiain (**66**) enantiomerjeinek előállítására nem tudtuk alkalmazni. A megfelelő flavanonszármazék A és B gyűrűjében levő elektronküldő csoportok miatt az alkalmazott körülmények között nem a kívánt gyűrűszűkülés játszódott le [67]. Megkíséreltük a Heck-oxiarilezési reakciót [68 + 70 → (±)-**71**] az o-jódfenolszármazékokra kiterjesztve enantioszelektívvé tenni [68]. Ezek a kísérletek ugyan számos értékes információt adtak a reakció mechanizmusáról, de az enantioszelektivitás elmaradásának okát eddig még nem tudtuk felderíteni. A **68** kroménszármazék magas hozamú előállítását, a tanszéken e terüle-



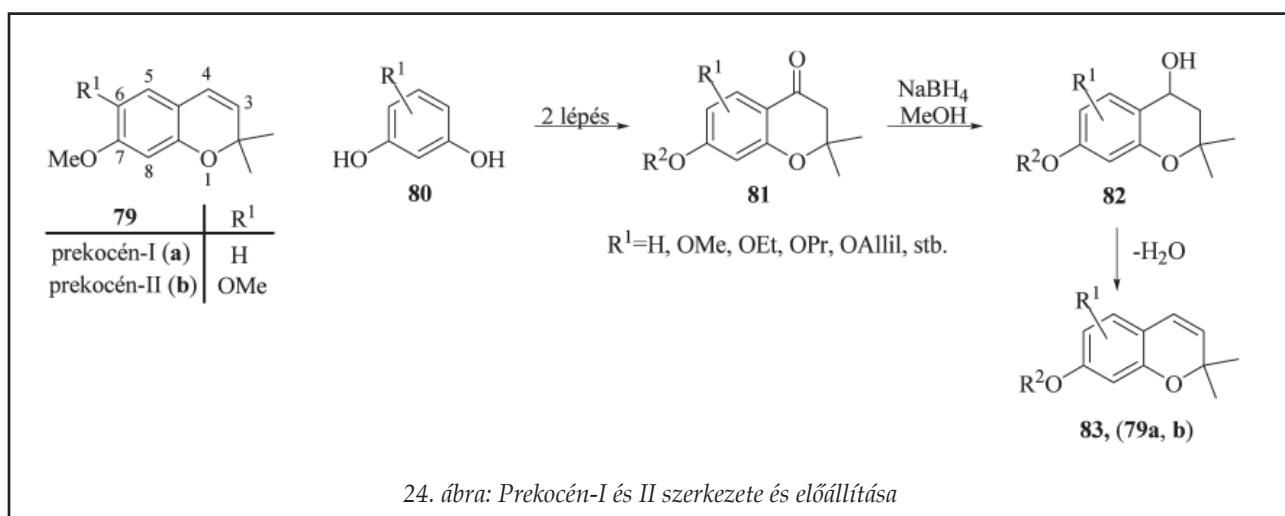


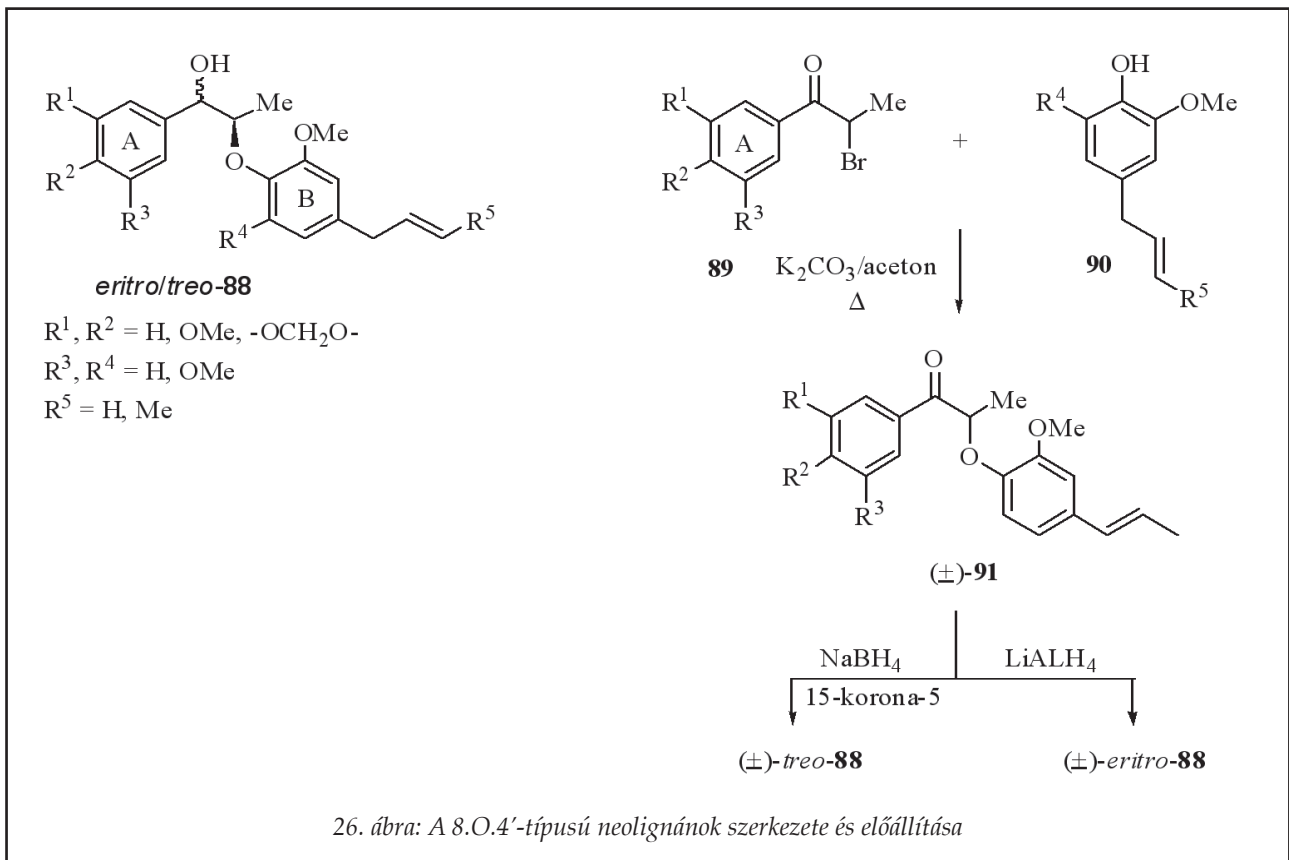
ten végzett korábbi kutatásaink tették lehetővé. Ezek a már fentebb említett kromokalin (20) analógjainak előállítása mellett a környezetbarát növényvédőszeresek kutatásához is kapcsolódtak.

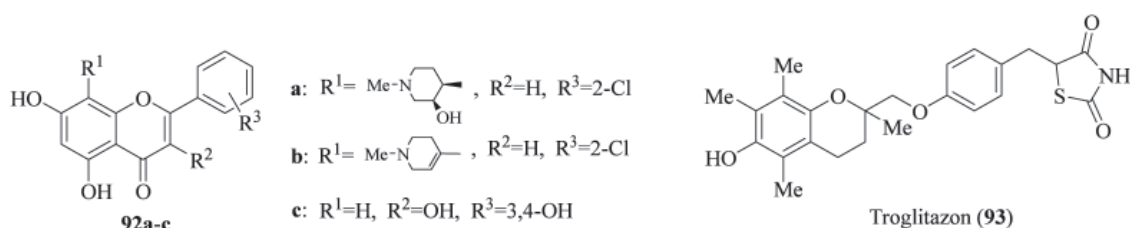
Az 1970-es évek elején a juvenilhormonok (JH) szerepének felismerése és az inszekticid hatású növényi eredetű anti-JH-k izolálása és biokémiai sajátásaik tanulmányozása új környezetbarát szemléletet alapoztak meg a növényvédelemben. Bowers és mtsai elsőként ismerték fel [69], hogy a 2,2-dimetil-2H-kromén származékok, mint pl. a prekocén-I (79a, PI) és -II (79b, PII), sterilizálják a „felnőtté váló” lárvákat. Ez a megfigyelés világszerte széleskörű hatás-szerkezet összefüggéseket feltáró vizsgálatokat indított el, melybe hazánkban is a kutatóintézetek (pl. a Szegedi Biológiai Központ/ Fodor professzor és mtsai) mellett a gyógyszergyá-

rak közül az Alkaloida Gyógyszergyár (Tiszavasvári) kutatói is (Hosztafi S., Sebők T., Timár T.) bekapcsolódtak. A 24. ábrán vázolt szintézis Bowers és Ohta által kidolgozott utolsó lépése [(±)-82 → 83] [70] az Alkaloida kutatóinak [71] szintetikus munkáját is erősen korlátozta. Az eliminációban ugyanis a C-7 alkoxicsoporttal aktivált sztirolszármazék keletkezik, melynek savkatalizált polimerizációja révén a szubsztituens mintázattól függő hozam csökkenés következett be. Ezt úgy sikerült elkerülni, hogy a racém 4-hidroxikromán-származékokat [(±)-82] igen híg acetonos oldatban néhány csepp 2%-os sósavval kezelték, ami a legtöbb esetben magas hozamot (> 90%) biztosított [72]. Molekuláris szinten feltehetően az történt, hogy a protonokat a nagy moláris feleslegben levő aceton nukleofil karbonil oxigénje kötötte meg: (Me₂C=OH⁺ ⇌ Me₂CO + H⁺), és ez adta át a (±)-82 hidroxilcsoportjának. Így a „meztelen proton” hiányában a végtermékek (79a,b, 83) C-3 szénatomján történő H⁺ addíció, és ezáltal a polimerizáció számottevően visszaszorult.

Említésre méltó eredményeket értünk el a természetes eredetű O- és C-prenilezett flavanonok szintézise és antifungális hatásuk vizsgálata területén is. A gombás fertőzések jelentős része a gazdaszervezet és a gomba szoros fizikai kapcsolata és egyéb tényezők együttes hatására alakul ki. Kandidózis gyűjtőnéven a sarjadzó gombák osztályába tartozó *Candida* nemzetség (pl. *C. albicans*, *C. glabrata*, gyakoriságuk: 70-80% ill. 5-25%) által okozott fertőzéseket foglalják össze. A *Candida*







zeti elem jelenléte együtt jár-e az antioxidáns tulajdonsággal is. A vizsgálatainkhoz egyszerű kétlépéses diasztereoselektív szintézist [89 + 90 → 91 → 88] dolgoztunk ki a 26. ábrán feltüntetett természetes eredetű *eritro*- és *treo*-8.0.4'-típusú neolignanok racemátjainak előállítására [77] és tanulmányoztuk a humán PMNL-ák szuperoxid-anion (O_2^-) termelésére kifejtett hatásukat. Jóllehet a vizsgált vegyületek 25 μ M-os koncentrációban mért citotoxicitása (79.70 – 93.83 \pm 9%) némileg meghaladta az E-vitaminét (103 \pm 6%), de valamennyi az E-vitaminnal (O_2^- inh.% = 59 \pm 6) közel azonos mértékben gátolta a PMNL-ák O_2^- termelését. Szignifikáns különbséget találtunk viszont a *treo*- és az *eritro*-sorba tartozó vegyületek aktivitása között (O_2^- inh.% *treo* > *eritro*) és a leghatékonyabb a *treo*-(\pm)-88 [R¹ = R² = R³ = R⁴ = OMe, O_2^- inh.% = 24 \pm 3, (a megfelelő *eritro*- 88 inh.% = 37 \pm 15)] volt. Az E-vitaminét (32) meghaladó antioxidáns sajátság e molekula fokozott lipoidoldhatóságának és feltehetően a 27. ábrán vázolt átalakulásnak tulajdonítható, melynek során, a „kártékony” szuperoxid anion (O_2^-) 3 lépésben (*treo*-88 → A → B → C) vízzé redukálódik. Ez az *eritro*-izomerek esetén jelentős energiát igénylő konformáció változás után játszódhat csak le.

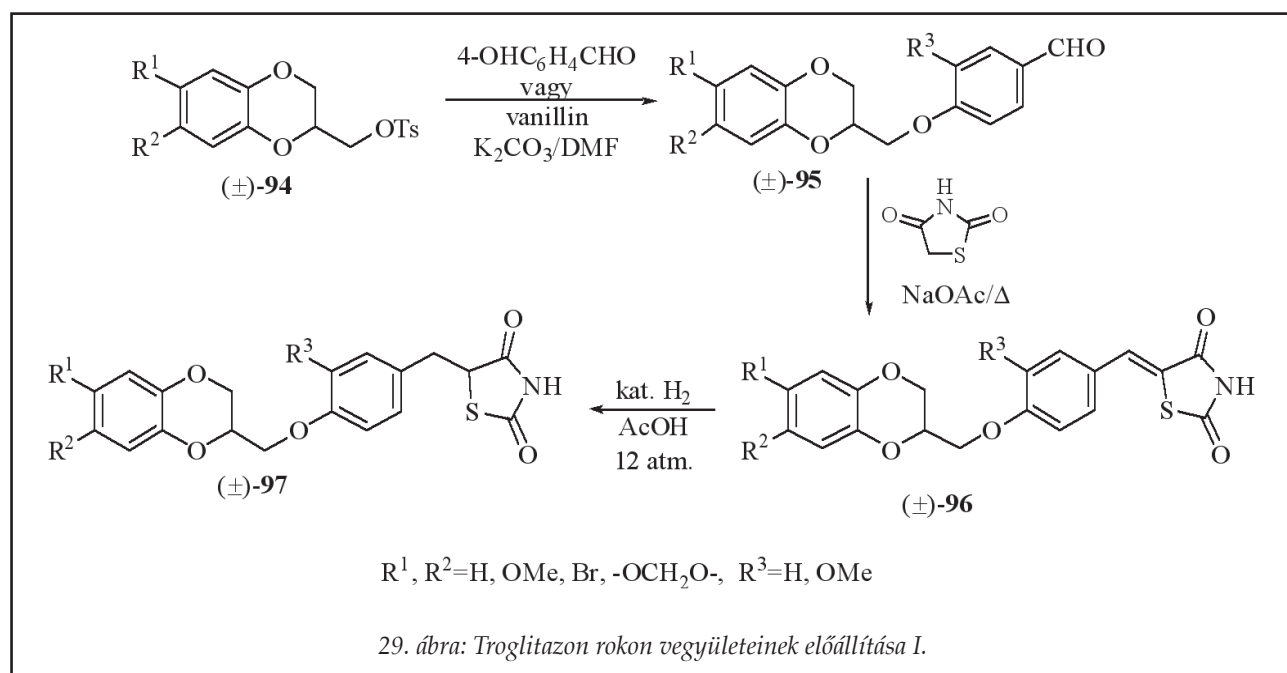
Az elmúlt négy évben a tanszéken folyó flavonoidkémiai kutatások kiterjedtek az ún. 2-típusú cukorbetegség (non-insulin dependent diabetes, NIDDM) gyógyítására potenciálisan alkalmas glikogén-foszforiláz (GP) inhibitorok előállítására is. E kutatások elindítását ösztönözte, hogy a nemzetközi érdeklődés e gyógyszerkutatási területen az elmúlt két évtizedben a betegek számának gyors növekedése (a cukorbetegek 90%-a e típusba tartozik és mértéktartó becslések szerint 2025-re már 300 millió ember lehet érintett) miatt számottevően fokozódott, és a tanszéken 1989 óta a szénhidrátkémiai kutatások körében *Somsák László* professzor irányításával e területen már nemzetközileg is elismert eredmények születtek. [78]

A munka megkezdéséhez további biztatást

adott az is, hogy a flavonoidok körében is figyelemre méltó aktivitású inhibitort [nyúlizom GP inhibíciós állandója: K_i (μM): **92a** (1.16), **92b** (0.89), **92c** (20.9)] referált már az irodalom [79]. A végső lökést pedig azok a közlemények adták meg, melyekben beszámoltak arról, hogy az USA-ban és Japánban 1997-ben bevezetett Rezulin®-t (Sankyo) – melynek a hatóanyaga a troglitazon (**93**) – 2000 márciusában visszavonták [80], mert a kezelt betegek 2%-ánál 61 halálesetrel és 7 májátültetéssel összefüggésbe hozható májkárosodás lépett fel, jöllehet e molekulában az E-vitamin (**32**) hatása szempontjából fontos 6-hidroxikromángyűrű is található (28. *ábra*). Az irodalomból az is ismert volt, hogy az inzulinrezisztenciát csökkentő tiazolidin-2,4-dionok – így a troglitazon (**93**) is – hatásukat úgy fejtik ki, hogy a zsírs sejtekben – de kisebb mértékben a máj- és vázizom szöveteiben is – előforduló gamma peroxysoma proliferator-aktivált magreceptorokhoz (PPAR γ) kötődnek. Ezáltal olyan gének expresszióját váltják ki, melyek fokozzák az adipocyták adipokin termelését [81].

A fentebb ismertetett májvédő hatású flavan-
olignánokkal kapcsolatos kutatásaink alapján ke-
zenfekvőnek látszott, hogy megpróbáljuk a trog-
litazon *O*-heterociklusos szerkezeti elemét a máj-
védő hatásban szerepet játszó 1,4-benzodioxánnal
helyettesíteni.

A racém **97** tiazolidin-2,4-dion származékokat a szintetikusan könnyen hozzáférhető, a tozilszoporttal aktivált racém 1,4-benzodioxán származékokból [(±)-**94**] állítottuk elő (29. ábra). Ezeket 4-hidroxibenzaldehiddel vagy vanillinnel K₂CO₃ jelenlétében reagáltatva a racém **95** aldehideket kaptuk meg, melyeket a kereskedelemben hozzáférhető tiazolidin-2,4-dionnal kondenzálva, jó kitermeléssel (45-85%) a (Z)-(±)-**96** arilidén-származékok keletkeztek [82]. Ezek (R¹, R² = H, OMe, -OCH₂O-, R³ = H vagy OMe) ecetsavban 12 atm nyomáson végzett katalitikus hidrogénezése a megfelelő (±)-**97** benzilszármazékokhoz vezetett. Oldhatósági okok miatt, a (±)-**96** és -**97** troglitazon analogok közül csak 3 benzilidén-származék



[(±)-**96**, ahol $R^1 = \text{Br}, R^2 = R^3 = \text{H}, K_i = 80 \mu\text{M}$; $R^1 = R^2 = \text{Br}, R^3 = \text{H}, K_i = 12 \mu\text{M}$; $R^1 = R^2 = \text{Br}, R^3 = \text{OMe}, K_i = 30 \mu\text{M}$] esetében sikerült a GP inhibíciós állandót (a GP enzim természetes inhibitora maga a β -D-glükóz) tudományos igényességgel meghatározni.

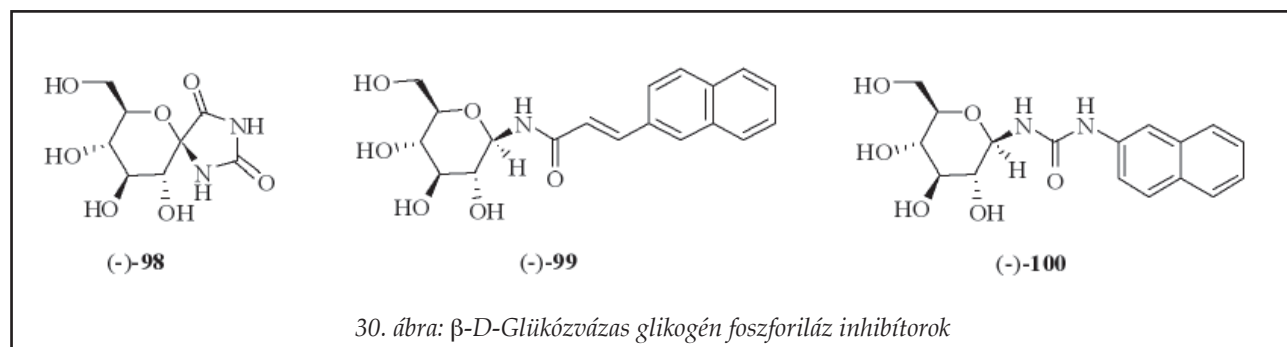
Ezek összehasonlítása az irodalomban leírt leghatékonyabb szénhidrátszármazékokéval (30. ábra) [(–)-**98**, $K_i = 3,1 \mu\text{M}$; (–)-**99**, $K_i = 3,5 \mu\text{M}$, (–)-**100**, $K_i = 0,4 \mu\text{M}$] [83] minden kétséget kizáróan azt mutatta, hogy az 1,4-benzodioxán gyűrűrendszer potenciális „építő kő” lehet egy új anti-diabetikus gyógyszer kifejlesztéséhez.

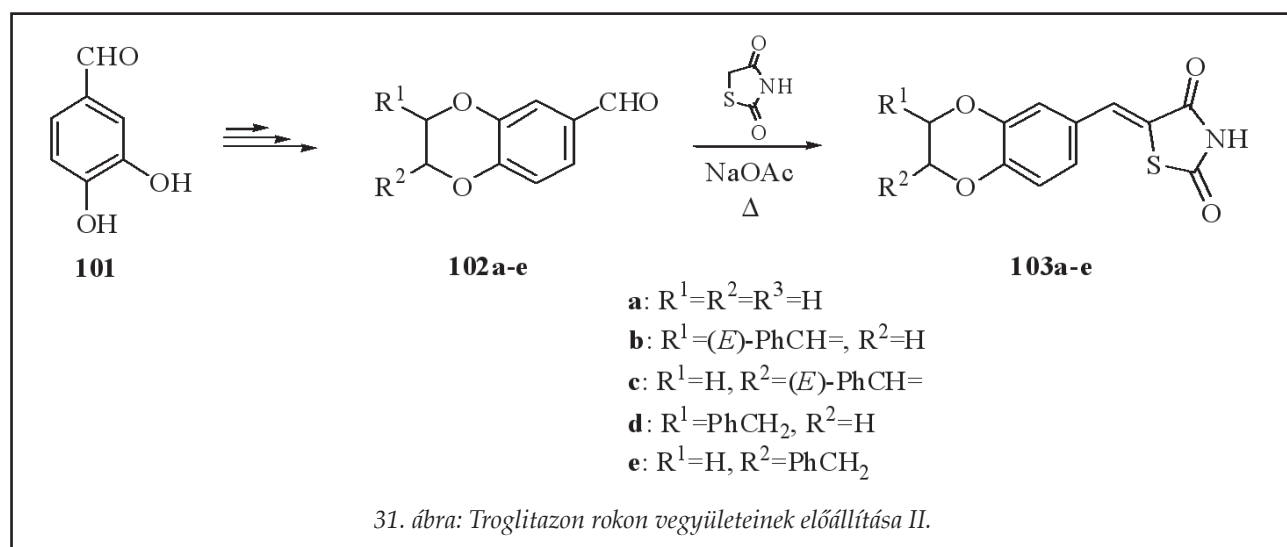
Ezt a megállapítást a legújabb kutatási eredményeink is alátámasztják. A troglitazonban (**93**) levő feniloxi „space”-t 1,4-benzodioxán gyűrűvel helyettesítve ugyan gyenge aktivitású vegyületet ($K_i = 233 \mu\text{M}$) kaptunk (**101**→**102a**→**103a**) (31. ábra), de ennek benzilidén csoporttal történő szubsztitúciója jelentős hatásnövekedést okozott (**103b**, $K_i = 25 \mu\text{M}$, **103c**, $K_i = 100 \mu\text{M}$). Talán nem érdektelen azt is

megemlíteni, hogy e regioizomerek közötti számottevő hatás különbség megszűnt, ha e molekulák benzilidén csoportjának részleges telítésével a molekulák π -donor képességét csökkentettük. A **103d,e** származékok ugyanis $625 \mu\text{M}$ -os koncentrációnál sem gátolták a glükóz-1-foszfát keletkezését [84]. A hatás-szerkezet összefüggések mélyebb vizsgálatára irányuló kísérleteink folyamatban vannak.

A flavonoidok N-heteroanalógjainak kutatása területén is jelentős eredmények születtek. Mint-hogy ezek legnagyobb részét 1998-ban részleteiben is ismertettük [85], ezért az újabb eredményeinkkel a jelen dolgozat terjedelme miatt nem foglalkoztam.

A flavonoidkémia területén eddig elért eredményeink – úgy gondolom – minden kétséget kizáróan igazolják, hogy a természetes eredetű képviselőik, de esetenként az O-heterociklusos gyűrűrendszereik is számos értékes biológiai hatás hordozói lehetnek. A gyógyszereké történő fej-





lesztésük hosszú és rögös út, de ha eddigi eredményeinket és a „francia paradoxon” néven ismertté vált kutatásokét [86] is alaposabban végiggondoljuk, akkor be kell látnunk, hogy ezt az utat egyszer már „bejártuk”. A növényi eredetű táplálékaink ugyanis a genetikai állományunkat „évmilliókon” keresztül úgy formálták, hogy a nap mint nap elfogyasztott O-heterociklusos vegyületek a tágabb értelemben vett „immunrendszerünk” hatékonyságát minden bizonnyal növelik, és például antioxidánsként, mint „szürke eminenciások” őrökdenek egészségünk megőrzése felett.

Meggyőződés, hogy a természet, és ezáltal a növényi eredetű táplálékaink tisztaságának megőrzése nemzetgazdasági érdek is. Az egészségügyben általánosan elfogadott nézet, hogy a megelőzés a legolcsóbb gyógyítás.

3. Köszönetnyilvánítás

E helyütt is köszönetemet fejezem ki a tanszék flavonoidkémiai munkáját bemutató közlemények szerzőinek, hogy értékes munkájukkal jelentősen hozzájárultak a tanszék tudományos színvonalának megőrzéséhez. Külön is megköszönöm *Lévai Albert* és *Patonay Tamás* egyetemi tanároknak, *Liptákné Tőkés Adrienne* és *Litkei György* ny. egyetemi docenseknek, *Magyar Lászlóné*, *Rimán Éva*, *Nagy Károlyné*, *Deák Edina*, *Varga Lajosné* és *Kupásné Fadgyas Katalin* vegyésztechnikusoknak, hogy a tudásuk legjavát adva dolgoztak és preparatív tapasztalataikat is számos hallgatóval is megosztva járultak hozzá, hogy a nemzetközileg elismert flavonoidkémiai kutatásaink mellett eredményes oktatás is folyjon. A munkánkhoz nélkülözhetetlen farmakológiai vizsgálatokért *dr. Varga Zsuzsa*

tudományos főmunkatársnak, *Gergely Pál* akadémikusnak (DE, OEC), *dr. Lenkey Béla* egyetemi docensnek (DE, TTK) és *Vízi. E. Szilveszter* akadémikusnak (SOTE) és munkatársaiknak mondok köszönetet. Megköszönöm *Szabó Edit* adminisztrátornak, hogy munkáját lelkiismeretesen végezve az adminisztratív teendőim nagy részétől tehermentesített és így az oktató-kutató munkámat hatékonyan segítette. Köszönetet mondok *dr. Gulácsi Katalin* egyetemi adjunktusnak, *dr. Kenéz Ágnes* tudományos munkatársnak és *Czakó Zoltán* doktorandusznak, hogy e közlemény összeállításában is segítségemre voltak.

A kutatásainkat az OTKA támogatta [I/3-1772, -1723 (1991-1994), T-14349 (1994-1996), T-0233687 (1997-2000), T-032429, -29090, M-45648 (2000-2003), T-034123, -034250 (2001-2004), K-0464948 (2004-2007), T-049436 (2005-2009), NI 61336 (2006-2010)], melyért e helyütt is őszinte köszönetünket fejezzük ki.

IRODALOM

1. *Zemplén, G., Csűrös, Z., Gerecs, Á., Aczél, S.*: Beiträge zur Kenntnis der Phlorhizins und Quereitrins. Ber. Dtsch. Chem. Ges. 61, 2486-2497 (1928). A phlorhizin és a phlorizin elnevezés mellett az irodalomban gyakran a phloridzin nevet használják.
2. a) *Zemplén, G., Kiss, D.*: Abbau der d-Glucose und d-Glucoheptose. Ber. Dtsch. Chem., Ges. 60, 165-170 (1927); b) *Zemplén, G., Csűrös, Z., Bruckner, Z.*: Einwirkung von Trimethylamin auf Acetobrom-Cellobiose und Acetobrom-Maltose. Ber. Dtsch. Chem. Ges. 61, 927-937 (1928); c) *Zemplén, G., Bruckner, Z., Gerecs, Á.*: Synthesen in der Kohlenhydrat-Gruppe mit Hilfe von Sublimierten Eisenchlorid, 1. Darstellung der Bioside der α -Reihe. Ber. Dtsch. Chem. Ges. 62, 990-993 (1929); d) *Zemplén, G., Gerecs, Á., Hadácsy, I.*: Über die Verseifung acetylierter Kohlenhydrate. Ber. Dtsch. Chem. Ges. 69, 1827-1829 (1936); e) *Zemplén, G., Csűrös, Z., Angyal, S.*: Über die Benzylierte Derivate des Lävö-

- glucosans und Glucose. Ber. Dtsch. Chem. Ges. 70, 1848-1856 (1937).
3. Zemplén, G., Bognár, R.: Konstitution und Synthese des Linarins und Pectolarins aus ihrem Aglykonen und aus Rutinose. Ber. Dtsch. Chem. Ges. 74, 1818-1824 (1941).
 4. Zemplén, G., Bognár, R.: Endgültige Konstitutionsaufklärung des Robinins. Ber. Dtsch. Chem. Ges. 74, 1783-1789 (1941).
 5. Zemplén, G., Bognár, R.: Über Sophorabioside, ein neues Glycosid der *Sophora japonica* L., Ber. Dtsch. Chem. Ges. 75, 482-489 (1942).
 6. a) Zemplén, G., Bognár, R.: Einwirkung von Quecksilbersalzen auf Acetohalogenzucker, XII, Eine neue, ausgiebige Synthese der Primaverose-Derivate und der Primaverose. Ber. Dtsch. Chem. Ges. 72, 47-49 (1939); b) Einwirkung Quecksilbersalzen auf Acetohalogenzucker, XIII. Synthese der Isoprimaverose (6- α -D-Xylosido-D-glucose) des α -Isomeren der Primaverose und ihrer Derivate. Ber. Dtsch. Chem. Ges. 72, 1160-1167 (1939).
 7. Bognár Rezső: A linarin és pectolarin szerkezete és szintézise. Műszaki doktori értekezés, Budapest (1941).
 8. Ruzsnyák, S., Szent-Györgyi, A.: Vitamin nature of flavones. Nature (London) 138, 27 (1936).
 9. Bruckner, Gy., Szent-Györgyi, A.: Chemical nature of citrin. Nature, 138, 1057 (1936).
 10. Bognár, R., Szabó, V., Farkas, I-né: Eljárás a rutin kivonására a japánakác részeiből. Magyar Szabadalom 146. 409 (1957).
 11. Bognár, R., Szabó, V.: Synthesis of „Sophoricoside”, one of the Glycoside of *Sophora japonica* L. Chemistry and Industry, 5, 518 (1954), Acta Chim. Acad. Sci. Hung. 4, 383-392 (1954).
 12. Bognár, R., Farkas-Szabó, I., Gross, H.: Cleavage of oligosaccharide glucoside by means of dichloromethyl methyl ethers: a novel preparations of α -halo-acetorutinose. Carbohyd. Res., 5, 241 (1967).
 13. Szabó, V., Litkei, Gy., Farkas, E., Bognár, R.: Alkylierung des Rutins und des Quercetins mit Halogenessigsäure derivaten I, II, III. Acta. Phys. Chim. (Debrecen) 13, 129, 145, 181, (1967).
 14. Bognár, R., L. Tókes, A., Frenzel, H.: Flavonoids XVI. Mono- and Diglucosides of Phloracetophenone and their Conversion into Glucosides of Chalcones, Flavone and Phlorizin Type. Acta. Chim. Acad. Sci. Hung. 61, 79 (1969).
 15. a) Kutatási eredmények 1950-1973. Jubileumi kötet Bognár Rezső hatvanadik születésnapjára (szerkesztette Gál Gy.) 133-187 (1973), Debrecen; b) Bognár R. and his collaborators: Survey of the Research on Flavonoids. Recent Flavonoid Research, in Recent Developments in the Chemistry of Natural Carbon Compounds (Ed. by Bognár R., Bruckner, Gy., Szántay Cs.) Akadémiai Kiadó, Budapest 79-126 pp. (1973); c) Bognár R., Bálint I., Rákosi M.: Chemistry of Sulphur Containing Flavonoids, in Studies in Organic Chemistry (Ed. by Bernardi, F., Czizmadia G., Mangini, A. 19 660-706 pp. (1985); d) Patonay T.: Advances in the synthesis of 3-substituted flavonoids. Trends in Het. Chem. 3, 421-437 (1993).
 16. a) Williams, R. J., Rice-Evans, C. A., Spencer, J. P. E.: Flavonoids and isoflavonoids (phytoestrogens): absorption, metabolism and bioactivity. Free Rad. Biol. Med. 36, 838-849 (2004); b) Biggers, J.D.: In Pharmacology of Plant Phenolics (Ed. by J.W. Fairbairn) p. 51 Academic Press, London (1959).
 17. a) Zechmeister, L.: Progress in the Chemistry of Organic Natural Products, New York, Springer-Verlag, 43, ch. 1. pp. 1-22 (1983); b) Ellis, G.Ed., Ellis, G.P.: Progress in Medicinal Chemistry (Elsevier) Science, Publish. 60 (1988).
 18. a) Donnelly, D. M. X., Boland, G. M.: Isoflavonoids and neoflavonoids: naturally occurring O-heterocycles. Nat. Prod. Rep. 12 321-338 (1995); b) Cushnie T.P.T., Lamb, A.J.: Antimicrobial activity of flavonoids. Int. J. of Antimicrobial Agents, 26 (5) 343-356 (2005).
 19. Nakagawa, M., Nakanishi, K., Darko, L. L., Vick. Z. A.: Structures of cabenegrins A-I and A-II, potent anti-snake venoms. Tetrahedron Lett. 23, 3855-3858 (1982), Eur. Pat. Appl. D. E. P. 89229 (1983). Chem. Abstr. 100, 39587 (1984).
 20. a) Feuer, L., Nógrádi, M., Gottsegen, Á., Vermes B., Strelisky, J., Wolfer A., Farkas L., Antus, S., Kovács, A.-né: Eljárás izoflavon-származékok előállítására. Magyar Szabadalom 163, 515 (1970); b) Lányi, Gy., Nógrádi, M., E-né, Puskás, M., Hermecz, I.: Az ipriflavon története. Acta Pharm. Hung. 65, 191-194 (1995).
 21. Kwart, H., Evans, E. R.: The Vapor Phase Rearrangement of Thioncarbonates and Thioncarbamates. J. Org. Chem. 31, 410-413 (1966).
 22. Lévai, A., Sebők, P.: New procedures for preparation isoflavones with unsubstituted ring A. Synth. Commun. 22, 1735-1750 (1992).
 23. Sebők, P., Timári, T., Eszényi, T., Patonay, T.: Modification Hydroxybenzopyranoids: Facile Deoxygenation of 2,2-Dimethyl-7-hydroxy-4-chromanones and New Approach to their Novel Mercapto Analogs. J. Org. Chem. 59, 6318-6321 (1994).
 24. Ashwood, V.A., Buckingham, R.E., Cassidy, F., Evans, J. M., Faruk, T., Hamilton, C., Nash, D.J., Stemp, G., Willcoks, K.: Synthesis and antihypertensive activity of 4-(cyclic amide)-2H-1-benzopyrans. J. Med. Chem. 29, 2194-2201 (1986).
 25. Kövér, J., Antus S.: Facile Deoxygenation of Hydroxylated Flavonoids by Palladium-Catalysed Reduction of its Triplate Derivatives. Z. Naturforschung 60b, 792-796 (2005).
 26. Adam, W., Bialas J., Hadjirapoglou, L.: A Convenient Preparation of Acetone Solutions of Dimethyldioxirane. Chem. Ber. 124, 2377-2377 (1991).
 27. a) Adam, W., Golsch, D., Hadjirapoglou L., Patonay, T.: Dimethyldioxirane Epoxidation of Flavones. Tetrahedron Lett. 32, 1041-1044 (1991); b) Adam, W., Golsch, D., Hadjirapoglou L., Patonay, T.: Epoxidation of Flavones by Dimethyldioxirane. J. Org. Chem. 56, 7292-7297 (1991).
 28. Adam, W., Hadjirapoglou, L., Lévai, A.: Dimethyldioxirane Epoxidation of Aurones and Isoflavones. Synthesis, 5, 436-438 (1992).
 29. Adam, W., Bialas, J., Hadjirapoglou, L., Patonay, T.: Direct Epoxidation of (E)-2'-Hydroxychalcones by Dimethyldioxirane. Synthesis, 2, 49-51 (1992).
 30. Patonay, T., Jekő, J., Kiss, A., Lévai, A.: Stereoselective α -Oxyfunctionalization of Benzo(hetero)cyclanones by Dimethyldioxirane. 3rd Electronic Conference on Synthetic Organic Chemistry (ECSOC-3), (1999). On-line: <http://www.unibas.ch/mdpi/ecsoc-3>, CD-ROM: ISBN 3-90698-04-0.
 31. a) Adam, W., Jekő, J., Lévai, A., Nemes, Cs., Patonay, T., Sebők, P.: Enantioselective epoxidation of 2,2-dimethyl-2H-chromenes by dimethyldioxirane and Jacobsen's Mn(III)salen catalysts. Tetrahedron Lett. 36, 3669-3672 (1995); b) Adam, W., Fell, R.T., Lévai, A., Patonay, T., Peters, A., Simon, A., Tóth, G.: Enantioselective epoxidation of isoflavones by Jacobsen's Mn(II)salen catalysts and dimethyldioxirane oxygen-atom-source. Tetrahedron 54, 13105-13114 (1998).

32. a) Patonay, T., Tóth, G., Adam, W.: Flavonoid 44. A Convenient and General Synthesis of trans-3-Hydroxyflavanones from Chalcones by Dimethyldioxirane Epoxidation and Subsequent Base-catalysed Cyclization. *Tetrahedron Lett.*, **34**, 5055-5058, (1993); b) Patonay, T., Lévai, A., Nemes, Cs., Timár, T., Tóth, G., Adam, W.: Synthesis and Cyclization of 1-(2-Hydroxyphenyl)2-propene-1-one Epoxides: 3-Hydroxychromanones and flavanones versus 2-(1-Hydroxyalkyl)3-coumaranones. *J. Org. Chem.* **61**, 5375-5383 (1996).
33. Wagner, H., Hörhammer, L., Münster, R.: Zur Chemie des Silymarins (silybin) des Wirkprinzips des Früchte von *Silybum marianum* L., *Arzneimittelforsch.* **18**, 688-884 (1968).
34. Lotter, H.L., Wagner, H.: Zur Stereochemie von Silybin *Z. Naturforsch.* **38c**, 339-341 (1983).
35. Kim, N. C., Graf, T. N., Sparacino, Ch. M., Wani, M. C., Wall, M. E.: Complete Isolation and Characterization of Silybins and Isosilybins. *J. Biorg. Chem.* **1**, 1684-1689 (2003).
36. Lotter, H.L.: Untersuchung der Struktur-Wirkungsbeziehung antihepatotoxischer Naturstoffe (Silybin-Antamanid) durch Röntgenstrukturanalyse. *Z. Naturforsch.* **39c**, 535-542 (1984).
37. Sonnerbichler, J., Goldberg, M., Hane, L., Madubunyi, I., Vogl, S., Zetl, I.: Stimulatory effect of Silibinin on the DNA synthesis in partially hepatectomized rat livers: non-response in hepatoma and other malign cell lines. *Biochem. Pharm.* **35**(3) 538-541 (1986).
38. a) Comoglio, A., Tomasi, A., Malandrino, S., Poli, G., Albano, E.: Scavenging effect of silipide, a new silybin-phospholipid complex, on ethanol derived free radicals. *Biochem. Pharmacol.* **50**, 1313-1316 (1996); b) Locher, R., Suter, P. M., Weyhenmeyer, R., Vetter, W.: Inhibitory action of silibinin on low density lipoprotein oxidation. *Arzneimittelforsch.* **48**, 236-239 (1998).
39. a) Czompa, A., Dinya, Z., Antus, S., Varga, Zs.: Synthesis and antioxidant activity of flavonoids derivatives containing a 1,4-benzodioxane moiety. *Arch. Pharm. Pharm. Med.* **175**-180 (2000); b) Varga, Zs., Czompa, A., Kakuk, G., Antus, S.: Inhibition of superoxid anion release and hydrogen peroxid formation in PMNLs by flavanolignans. *Phytother. Res.* **15**, 608-612 (2001). c) Varga, Zs., Újhelyi, L., Kiss, A., Balla, J., Czompa, A., Antus, S.: Effect of silybin on phorbol myristate acetate-induced protein kinase C translocation, NADH oxidase activity and apoptosis in human neutro. *Phytomedicine* **11**, 206-212 (2004). d) Varga, Zs., Seres, I., Nagy, E., Újhelyi, L., Balla, G., Antus, S.: Structure prerequisite for antioxidant activity in different biochemical systems *in vitro*. *Phytomedicine* **13**, 85-93 (2006).
40. Rice-Evans, C.A., Miller, N.J., Papanga, G.: Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Rad. Biol. Med.* **20**, 933-956 (1996).
41. a) Sharma, G., Singh, R.P., Chan, D.C., Agarwal, R.: Silibinin induces growth inhibition and apoptotic cell death in human lung carcinoma cells. *Anticancer Res.* **23** (3B) 2649-2655 (2003); b) Bhatia, N., Zhao, J., Wolf, D.M., Agarwal, R.: Inhibition of human carcinoma cell growth and DNA synthesis by silibinin, an active constituent of milk thistle: comparison with silymarin. *Cancer Lett.* **147** (1-2), 77-84 (1999); c) Mokhtari, M.J., Motamed, N., Shokrgozar, M.A.: Evaluation of silibinin on the viability, migration and adhesion of the human prostate adenocarcinoma (PC-3) cell line. *Cell Biol. Int.* **32** (8) 888-892 (2008).
42. a) Stiber, G., Szilágyi, I., Tétényi, P.: Hatóanyag és összetételbeli különbségek a *Silybum* genus két fájában. *Herba Hung.* **16**, 55-75 (1977); b) Szilágyi, I., Tétényi, I., Antus, S., Seligmann, O., Chari, V.M., Seitz, M., Wagner, H.: Struktur von Silandrin und Silymonin, zwei neuen Flavanolignan aus einen weißblühenden *Silybum marianum* Variete *Planta Med.* **43**, 121-127 (1981); c) Antus, S., Baitz-Gács, E., Snatzke, G., Tóth, T.S.: Synthesis and Circular Dichroism of Steroids with a 1,4-Benzodioxane Chromophore: on the Absolute Configuration of (-)-Silandrin. *Liebigs Ann. Chem.* **633**-641 (1991); d) Antus, S., Baitz-Gács, E., Gottsegen, Á., Kovács, T., Szunyog, J., Tóth, T.S., Wagner, H.: Total Synthesis of rac-Silandrin, an Antihepatotoxic Flavanolignan. *Liebigs Ann. Chem.* **105**-109 (1993).
43. Hikino, H., Kiso, Y., Wagner, H., Fiebig, M.: Antihepatotoxic actions of flavanolignans from *Silybum marianum* fruits. *Planta Med.* **50**, 248-250 (1984).
44. a) Samu, Zs., Nyiredy, Sz., Baitz-Gács, E., Varga, Zs., Kurtán, T., Dinya, Z., Antus, S.: Structure Elucidation and Antioxidant Activity of (-)-Isosilandrin Isolated from *Silybum marianum* L. *Chem. & Biodiv.* **1**, 1668-1677 (2004); b) Nyiredy, Sz., Samu, Zs., Szűcs, Z., Gulácsi, K., Kurtán, T., Antus, S.: New Insight into the Biosynthesis of Flavanolignans in the White-Flowered Variant of *Silybum marianum*. *J. Chrom. Sci.* **46**, 93-96 (2008).
45. Nyiredy, Sz., Szűcs, Z., Antus, S., Samu, Zs.: New Components from *Silybum marianum* L. Fruits: A Theory Comes True [In memoriam of Prof. Sz. Nyiredy (1950-2006)] *Chrom. Suppl.* **68**, 5-11 (2008).
46. Antus, S., Baitz-Gács, E., Bauer, R., Gottsegen, Á., Seligmann, O., Wagner, H.: Regioselective Synthesis of 2- and 3-Aryl-1,4-Benzodioxanes. *Liebigs Ann.* **1147**-1151 (1989).
47. Litkei, Gy., Gulácsi, K., Antus, S., Blaskó, G.: Cyclodehydrogenation of 2'-Hydroxychalcones with Hypervalent Iodine Reagent: A New Synthesis of Flavones. *Liebigs Ann. Chem.* **1711**-1715 (1995).
48. Hu, Ch.Q., Chen, H., Shi, Q., Kilkuskie, R., Cheng, Y.Ch., Lee, K.L.: Anti-AIDS Agents, 10. Acacetin-7-O- β -D-galactopyranoside, an Anti-HIV Principle from *Chrysanthemum morifolium* and a Structure-Activity Correlation with Some Related Flavonoids. *J. Nat. Prod.* **57**, 42-51 (1994).
49. Gulácsi, K., Litkei, Gy., Antus, S., Gunda, T.: A Short and Facile Route to Prenylated Flavones. Cyclodehydrogenation of Prenylated 2'-Hydroxychalcones by a Hypervalent Iodine Reagent. *Tetrahedron*, **54**, 13867-13876 (1998).
50. Pelter, S.M., Elgendy, A.: Phenolic Oxidations with Phenyliodonium Diacetate. *J. Chem. Soc. Perkin Trans.* **1**, 1891-1895 (1993).
51. McKillop, A., Perry, D.H., Edwards, M., Antus, S., Farkas, L., Nógrádi, M., Taylor, E.C.: Thallium in Organic Synthesis, XLII. Direct Oxidation of 4-Substituted Phenols to 4,4-Disubstituted Cyclohexa-2,5-dienones Using Thallium(III) Nitrate. *J. Org. Chem.* **41**, 282-287 (1976).
52. Kirti, L., Herczegh, P., Visy, I., Simonyi, M., Antus, S., Pelter, A.: New Insight into the Mechanism of Phenolic Oxidation with Phenyliodonium(III) reagents. *J. Chem. Soc. Perkin Trans* **1** 379-380 (1999).
53. a) Chen, Y.P., Hong, M., Hsu, H.Y., Yamamura, S., Hivata, Y.: Isolation and structure of Asatone *Tetrahedron Lett.* **13**, 1607-1610 (1972); b) Sasaki, K., Hirata, Y., Yamamura, S., Chen, Y.P., Hong, M.H., Hsu, H.Y.: Isolation and structure of isoasatone *Tetrahedron Lett.* **14**(49) 4881-4884 (1973); c) Iguchi, M., Nishiyama, A., Terada, Y., Yamamura, S.: Anodic oxidation of 2,6-dimethoxy-4-

- allylphenol: Synthesis of asatone. *Tetrahedron Lett.* 18 (51) 4511-4514 (1977).
54. Kürti, L., Szilágyi, L., Antus, S., Nógrádi, M.: Oxidation of O-Methoxyphenols with a Hypervalent Iodine Reagent: Improved Synthesis of Asatone and Demethoxyasatone. *Eur. J. Org. Chem.* 2579-2581 (1999).
 55. Juhász, L., Kürti, L., Antus, S.: Simple Synthesis of Benzofuranoid Neolignans from *Myristica fragrans*. *J. Nat. Prod.* 63, 866-870 (2000).
 56. Fukuyama, Y., Mizuta, K., Nagakawu, K., Wenjuan, Q., Xiue, W. A New Neo-Lignan, A Prostaglandin I, Inducer from the Leaves of *Zizyphus jujuba*. *Planta Med.* 06, 501-504 (1986).
 57. Antus, S., Gottsegen, A., Kolonits, P., Wagner, H.: Total Synthesis of Two Naturally Occurring Neolignans of Potential Biological Activity. *Liebigs Ann. Chem.* 593-594 (1989).
 58. Brunow, G., Lundquist, K.: A New Synthesis of Model Compounds for the Beta-5 Structural Unit in Lignins. *Acta Chem. Scand.* 38, 335-336 (1984).
 59. a) Juhász, L., Dinya, Z., Antus, S., Gunda, T.E.: A new approach for the synthesis of naturally occurring dihydrobenzo[b]furan-type neolignans of potential activity. *Tetrahedron Lett.* 41, 2491-2494 (2000); b) Juhász, L., Dinya, Z., Antus, S., Gunda, T.E.: A New Synthesis of Two Naturally Occurring Dihydrobenzo[b]furan-Type Neolignans of Potential Biological Activity *Z. Naturforschung*, 56b, 554-559 (2001).
 60. Horino, H., Inoue, N.: A New Route to Chromanocoumarans. Synthesis of (±)-Pterocarpin. *J.C.S. Chem. Comm.* 398 500-501 (1976).
 61. Breytenbach, J.C., Rall, G.J.H.: Structure and Synthesis of Isoflavonoid Analogues from *Neorautanenia amboensis* Schinz. *J.C.S. Perkin I.* 1804-1809 (1980).
 62. a) Szarvas, Sz., Szókán, Gy., Hollósi, M., Kiss, L., Antus, S.: Determination of the Absolute Configuration of Synthetic Pterocarpan by Chiral HPLC Using On-line CD Detection. *Enantiomer*, 5, 535-543 (2001); b) Antus, S., Kurtán, T., Juhász, L., Kiss, L., Hollósi, M., Majer, Zs.: Chiroptical Properties of 2,3-Dihydro[b]furan and Chromane Chromophores in Naturally Occurring O-Heterocycles. *Chirality*, 13(8) 493-506 (2001).
 63. Tökés, A.L., Litkei, Gy., Gulácsi, K., Antus, S., Baitz-Gács, E., Szántay, Cs., Darkó, L.L.: Absolute Configuration and Total Synthesis of (-)-Cabeneigrin A-I. *Tetrahedron* 55, 9283-9296 (1999).
 64. Gulácsi, K., Litkei, Gy., Antus, S., Szántay, Cs., Darkó, L.L., Szelényi, J., Haskó, Gy., Vizi, E.Sz.: Synthesis and Biological Activity of the Structural Analogues of (-)-Cabeneigrin A-I. *Arch. Pharm. Pharm. Med. Chem.* 334, 53-61 (2001).
 65. Juhász, L., Szilágyi, L., Antus, S., Visy, J., Zsila, F., Simonyi, M.: New Insight into the Mechanism of Hypervalent Iodine Oxidation of Flavanones. *Tetrahedron*, 58, 4261-4265 (2002).
 66. a) Kiss, L., Szilágyi, L., Antus, S.: A Simple Conversion of 2'-Benzyloxyflavanone to Pterocarpan. *Z. Naturforschung* 57b, 1165-1168 (2002); b) Kiss, L., Kurtán, T., Antus, S., Bényei, A.: Chiroptical Properties and Synthesis of Enantiopure *cis* and *trans* Pterocarpan Skeleton. *Chirality*, 15, 558-563 (2003).
 67. Németh, I., Gulácsi, K., Antus, S., Kéki, S., Zsuga, M.: New Insight into the Ring Contraction of 2-Benzyloxyflavanones. *Nat. Prod. Comm.* 1(11) 991-996 (2007).
 68. a) Kiss, L., Antus, S.: A Convenient Synthesis of Pterocarpan. *Heterocycl. Comm.* 6, 309-314 (2000); b) Kiss, L., Papp, G., Joó, F., Antus, S.: Efficient Synthesis of Pterocarpan by Heck-Oxyarylation in Ionic Liquids. *Heterocycl. Comm.* 7, 417-420 (2001); c) Kiss, L., Kurtán, T., Antus, S., Brunner, H.: Further Insight into the Mechanism of Heck Oxyarylation in the Presence of Chiral Ligands. *Arkivoc* 5, 69-76 (2003); d) Kerti, G., Kurtán, T., Antus, S.: Study of the Reaction Mechanism of Heck Oxyarylation of 2H-chromens. *Arkivoc*, vi, 103-110 (2009).
 69. a) Bowers, W.S., Ohta, T., Cleere, J.S., Marsella, P.A.: Discovery of insect anti-juvenile hormones in plants. *Science* 193, 542-543 (1976); b) Bowers, W.J.: Anti-juvenile hormone from plants: Chemistry and biological activity. In „Natural Products in the Protection of Plants” (Ed. by G.B. Marini-Bettolo) pp. 129-156 Pontif. Acad. Sci. Vatican City (Italy) (1977).
 70. Ohta, T., Bowers, W.S.: Synthesis of Insect Anti-juvenile Hormones. *Chem. Pharm. Bull.* 25, 2788-2789 (1977).
 71. Timár, T., Hosztafi, S., Jászberényi, J.Cs., Kövér, K.E., Bata, Gy.: Synthesis of Analogues of Natural Precocene I Containing Various 7-O-Substituent. *Acta Chim. Hung.* 125, 303-312 (1988).
 72. Lévai, A., Timár, T.: New procedure for preparation of 2,2-dimethyl-2H-chromens. *Synt. Comm.* 20, 614-648 (1990).
 73. Garo, E., Wolfender, J.L., Hostettman, K., Hiller, W., Antus, S., Mavi, S.: Prenylated Flavanones from *Monotes engleri*: Online Structure Elucidation by LC/UV/NMR.” *Helv. Chim. Acta* 81, 754-763 (1998).
 74. a) Kenéz, Á., Juhász, L., Antus, S.: Symple Synthesis of Selinone, an Antifungal Component of *Monotes engleri*. *Heterocycl. Comm.* 8, 543-548 (2002); b) Kenéz, Á., Antus, S.: First Synthesis of (±)-Monotesone B and New Synthesis of (±)-Lonchocarpol A and (±)-Bavachin. *Natural Prod. Commun.* 1, 51-55 (2006).
 75. Kenéz, Á., Lestár, Zs., Lenkey, B., Antus, S.: Synthesis and structure-activity relationship study of monotesone-A, an antifungal component of *Monotes engleri*. *Nat. Prod. Res.* 22, 383-392 (2008).
 76. a) Bodano, H., Zaccchino, S.: Enantioselective synthesis and absolute configuration assignment of erythro-(3,4,5-trimethoxy-7-hydroxy-1'-allyl-2',6'-dimethoxy)-8.0.4'-neolignan isolated from Mace (*Myristica fragrans*). *J. Nat. Prod.* 51, 1265-1265 (1988); b) Zaccino, S., Rodriguez, G., Pezzinati, G., Orellana, G., Enriz, R., Siene, M.G.: In vitro evaluation of antifungal properties of 8.0.4'-neolignans. *J. Nat. Prod.* 60, 660-663 (1997).
 77. a) Kónya, K., Antus, S.: Egyszerű szintézisút az antioxidáns tulajdonságú 8.0.4'-típusú neolignánok előállítására. *Magy. Kém. Foly.* 108, 273-276 (2002); b) Kónya, K., Varga, Zs., Antus, S.: Antioxidant properties of 8.0.4'-neolignans. *Phytomedicine*. 8, 454-459 (2001).
 78. a) Ósz, E., Somsák, L., Szilágyi, L., Kovács, L., Docsa, T., Tóth, B., Gergely, P.: Efficient Inhibition of Muscle and Liver Glycogen Phosphorylases by a New Glucopyranosylidene-spiro-thiohydantoin. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 9, 1385-1390 (1990); b) Oikonomakos, N.G., Somsák, L.: Advances in glycogen phosphorylase inhibitor design. *Curr. Opin. Invest. Drugs*, 9, 379-395 (2008).
 79. a) Hampson, L., Arden, C., Agius, L., Genotidis, M., Kotsompolou, M.N., Tiraidis, C., Sakarellos, C., Leonidas, D.D., Oikonomakos, N.G.: Bioactivity of glycogen phosphorylase inhibitors that bind to the purine nucleoside site. *Bioorg. Med. Chem.* 14, 7835-7845 (2006); b) Jacobs, S., Fridrich, D., Hofen, S., Pahlke, G., Eisenbrand, G.: Nat-

- ural flavanoids of glycogen phosphorylase. *Mol. Nutr. Food Res.* 50, 52-57 (2006).
80. a) *Plosker, G.L., Faulds, D.*: Troglitazone: a review of its use in the management of type 2 diabetes mellitus. *Drugs*, 57, 409-438 (1999); b) *Gale, E.A.M.*: Lessons from the glitazones: a story of drug development. *The Lancet*, 357, 1870-1875 (2001).
81. *Valentiner, U., Carlsson, M., Erttmann, R., Hildebrandt, H., Schumacher, U.*: Ligands for the peroxisome proliferator-activated receptor- γ have inhibitory effects on growth of human neuroblastoma cells in vitro. *Toxicology*, 213, 157-168 (2005).
82. *Juhász, L., Docsa, T., Brunyánszki, A., Gergely, P., Antus, S.*: Synthesis and glycogen phosphorylase inhibitor activity of 2,3-dihydrobenzo[1,4]dioxin derivatives. *Bioorg. Med. Chem.* 15, 4048-4056 (2007).
83. a) *Somsák, L., Nagy, V., Hadady, Zs., Docsa, T., Gergely, P.*: Glucose analog inhibitors of glycogen phosphorylases as potential antidiabetic agents: Recent developments. *Curr. Pharm. Des.* 9, 1177-1189 (2003); b) *Györgydeák, Z., Hadady, Zs., Felföldi, N., Krakomperger, A., Nagy, V., Tóth, M., Brunyánszki, A., Docsa, T., Gergely, P., Somsák, L.*: Synthesis of *N*-(β -D-glucopyranosyl)- and *N*-(2-acetamido-2-deoxy- β -D-glucopyranosyl)amides as inhibitors of glycogen phosphorylase. *Bioorg. Med. Chem.* 12, 4861-4870 (2004).
84. *Czakó, Z., Docsa, T., Gergely, P., Juhász, L., Antus, S.*: Synthesis and phosphorylase inhibitor activity of functionalized 1,4-benzodioxanes, *Pharmazie, közlésre elfogadva* (2009).
85. *Tőkés, A.L., Antus, S.*: 2'-Amino-kalkonok és *N*-szubsztituált származékaik előállítása. *Magy. Kém. Lapja* 53, 124-132 (1998).
86. a) *Scott, G.*: Antioxidants the modern elixir? *Chemistry in Britain*, 879-882 (1995); b) *Aruoma, O.*: Eat, drink and be healthy. *Chemistry in Britain*, 29-31 (1996); c) *Haslam, E.*: Plant polyphenols: old wine in new bottles. *Education in Chemistry*, 38, 17-20 (2001).

[Érkezett: 2009. december 3.]

A MAGYAR GYÓGYSZERÉSZTUDOMÁNYI TÁRSASÁG
ELNÖKSÉGE,
A TÁRSASÁG TITKÁRSÁGA
ÉS AZ ACTA PHARMACEUTICA HUNGARICA SZERKESZTŐI
KÖSZÖNTIK KEDVES OLVASÓINKAT.



Boldog Új Esztendőt,
valamint szakmai törekvések
megvalósításához sok sikert kívánunk!

A *Physalis alkekengi* termésének és hidrofil anyagainak antioxidáns hatása

LACZKÓ-ZÖLD ESZTER¹, ZUPKÓ ISTVÁN², RÉTHY BORBÁLA², CSEDŐ KÁROLY¹,
HOHMANN JUDIT^{3*}

¹Marosvásárhelyi Orvosi és Gyógyszerészeti Egyetem, Farmakognózia Tanszék, RO-540139 Marosvásárhely, Gh. Marinescu u. 38.

²Szegedi Tudományegyetem, Gyógyszerhatástani és Biofarmáciai Intézet, 6720 Szeged, Eötvös u. 6.

³Szegedi Tudományegyetem, Farmakognóziai Intézet, 6720 Szeged, Eötvös u. 6.

Summary

Laczkó-Zöld, E., Zupkó, I., Réthy, B., Csedő, K. and Hohmann, J.: Antioxidant activity of the fruits and hydrophilic compounds of *Physalis alkekengi*

Physalis alkekengi L. (bladder cherry, Chinese lantern, winter cherry) is an unusual species of the family Solanaceae. Although accumulation of alkaloids is characteristic to Solanaceae species, and accordingly the root and above ground parts of *P. alkekengi* are toxic, its fruits are in exceptionally edible. The present paper deals with the investigation of antioxidant hydrophilic compounds of the fruits in order to find correlation between the quantity of the constituents and antioxidant capacity of the extracts. Dried and fresh, freeze stored fruits were extracted with water, and the ascorbic acid and total polyphenol content of the fruits was determined. Furthermore, the antioxidant effect was investigated by DPPH test, and in vitro using the rat-brain homogenate method. The antioxidant activity measured by DPPH (fresh fruit: $IC_{50} = 2.48$ mg/ml; dried fruit: $IC_{50} = 22.32$ mg/ml) showed good correlation with the ascorbic acid content of the fruit (fresh fruit: 1.095 %; dried fruit: 0.162 %), and exhibited substantial decrease due the drying process. Lipidperoxidation inhibitory activity was found to be weaker as the DPPH radical scavenger capacity, however, also showed a decrease during the drying process of the fruit (fresh fruit: $IC_{50} = 6.43$ mg/ml; dried fruit: $IC_{50} = 15.59$ mg/ml).

Our results clearly demonstrated the radical scavenger and lipidperoxidation inhibitory activity of aqueous extracts of bladder cherry, and indicate that the conservation and processing technology significantly influenced the antioxidant activity and the content of the active ingredients.

Key-words: *Physalis alkekengi* L., antioxidant activity, lipidperoxidation inhibitory activity.

Összefoglalás

Az *Alkekengi fructus* anyanövénye a *Physalis alkekengi* L. (zsidócsereesznye, hólyagcsereesznye) a Solanaceae család rendhagyó képviselője. Bár a Solanaceae fajokra jellemző módon alkaloidokat tartalmaz és emiatt gyökere és föld feletti része mérgező, termése kivételes módon ehető. Jelen munkánkban a termés hidrofíl jellegű antioxidáns komponenseivel foglalkozunk, keresve az egyes tartalomanyagok mennyisége és a kivonatok antioxidáns aktivitása közötti összefüggést. Vizes kivonatokat készítettünk szárított és friss, fagyaszttva tárolt termésekből, meghatároztuk ezek aszkorbinsav és összpolicfenol tartalmát, valamint vizsgáltuk antioxidáns hatásukat DPPH módszerrel és in vitro patkányagy homogenizátumon. A DPPH módszerrel mért antioxidáns aktivitás (fagyasztott termés: $IC_{50} = 2,48$ mg/ml; szárított termés: $IC_{50} = 22,32$ mg/ml) a termés C vitamin tartalmával (fagyasztott termés: 1,095 %; szárított termés: 0,162 %) mutat összefüggést, és szárítás során jelentősen csökken. A kivonatok patkányagy homogenizátumon meghatározott lipidperoxidáció gátlása kevésbé kifejezett, mint DPPH gyökmegkötő kapacitása, és a gyümölcs szárítása során szintén csökkenő tendenciát mutat (fagyasztott termés: $IC_{50} = 6,43$ mg/ml; szárított termés: $IC_{50} = 15,59$ mg/ml). Eredményeink egyértelműen igazolják a hólyagcsereesznye termés vizes kivonatának szabadgyökfogó és lipidperoxidáció gátló hatását, ugyanakkor rámutatnak arra, hogy a konzerválási, illetve feldolgozási technológia nagymértékben befolyásolja ezen aktivitást és a hatáért felelős anyagok mennyiségét.

Kulcs-szavak: *Physalis alkekengi* L., antioxidáns aktivitás, lipidperoxidáció gátlás

Bevezetés

Az oxidatív stressz és az egyes betegségek kialakulása illetve súlyosbodása közötti összefüggések kimutatása óta egyre fokozottabb figyelmet kap az antioxidánsokkal történő megelőzés. Az emberi szervezet megfelelő minőségű és mennyiségű antioxidánssal való ellátása ezért igen fontos kérdéssé vált. Az étel- és italipar számára is kihívást jelent a hagyományos szintetikus antioxidánsok

természetes anyagokkal való helyettesítése. Mindezek ösztönzik az újabb természetes antioxidánsok feltárására irányuló kutatásokat, és az antioxidáns aktivitást jellemző módszerek kidolgozását. Az utóbbi időben több közlemény számol be az egyes gyümölcsök és gyógynövények hatóanyag tartalma és antioxidáns aktivitása közötti összefüggésről. Legtöbbjük hidrofíli oxidációs modellt alkalmaz, és számos esetben a policfenol-tartalommal magyarázzák az antioxidáns hatást [1, 2].

Az *Alkekengi fructus* anyanövénye a *Physalis alkekengi* L. (zsidócsereesznye, hólyagcsereesznye) a Solanaceae család rendhagyó képviselője. Bár a Solanaceae fajokra jellemző módon alkaloidokat tartalmaz, és emiatt gyökere és föld feletti része mérgező, termése kivételes módon ehető. A növény zöld részeiben és gyöktörzsében található vegyületek közül főleg két csoport keltette fel a kutatók érdeklődését: a fizalinok és a kaliszteginek. A fizalinok a *Physalis* fajokra jellemző, de más burgonyafélékben is előforduló 28 szénatomos szteránvázis laktonok [3, 4]. Az első vegyületeket ázsiai kutatók írták le a *Physalis alkekengi* var. *franchetii*-ből (Masters) [5, 6]. Tumorsejtekre kifejtett citotoxicitásukat számos *in vitro* kísérletben igazolták [7, 8]. Újabb vegyületek izolálásáról és szerkezetmeghatározásáról folyamatosan jelennek meg közlemények. A kaliszteginnek olyan nortropánvázis többszörösen hidroxilezett alkaloidok, melyek glikozidázgátló hatásuk révén potenciális antidiabetikumként kerültek a figyelem középpontjába. Mivel a gátlás nem szelektív, toxicitási problémák merülhetnek fel [9, 10, 11].

A *P. alkekengi* termését több európai és ázsiai országban vizelethajtóként, antibakteriális droként és vitamin forrásként alkalmazzák a népgyógyászatban [12, 13, 14]. Újabb kutatási eredmények a termés poliszacharidjainak vércukorszint-csökkentő hatását bizonyítják [15].

Az *Alkekengi fructus* esetén nem közöltek antioxidáns határról vagy annak valamelyik hatóanyagcsoporttal való kapcsolatáról beszámoló közleményt.

Az általunk vizsgált termés legismertebb, leginkább tanulmányozott vegyületei a karotinoidok. Az *Alkekengi fructus* jelentős xantofillforrásként tartja számon az irodalom [16, 17], ugyanakkor közismert magas C-vitamin tartalma is. Ismerve a karotinoidok és a C-vitamin szerepét a szabadgyökök semlegesítésében, fontosnak tartottuk a termés vizsgálatát ilyen tekintetben. Mivel a népgyógyászati alkalmazás többnyire vizes kivonatokra szorítkozik (főzet, forrázat, macerátum), jelen munkánkban a termés hidrofil jellegű antioxidáns komponenseivel foglalkoztunk, keresve az egyes tartalomanyagok mennyisége és a kivonatok antioxidáns aktivitása közötti összefüggést.

Vizes kivonatokat készítettünk szárított és friss, fagyasztva tárolt termésekből, meghatároztuk ezek aszkorbinsav és összpolicifénol tartalmát, valamint antioxidáns hatását DPPH módszerrel és *in vitro* patkányagy homogenizátumon.

Kísérleti rész

Vizsgálati anyag.

Az *Alkekengi fructus* 2005. szeptemberében gyűjtöttük Mezőpanit községben (Maros megye, Románia) előforduló természetes állományból. A mintát szobahőmérsékleten szárítottuk (Sz) illetve feldolgozásig mélyhűtve -20 °C-on tároltuk (F).

Anyagok.

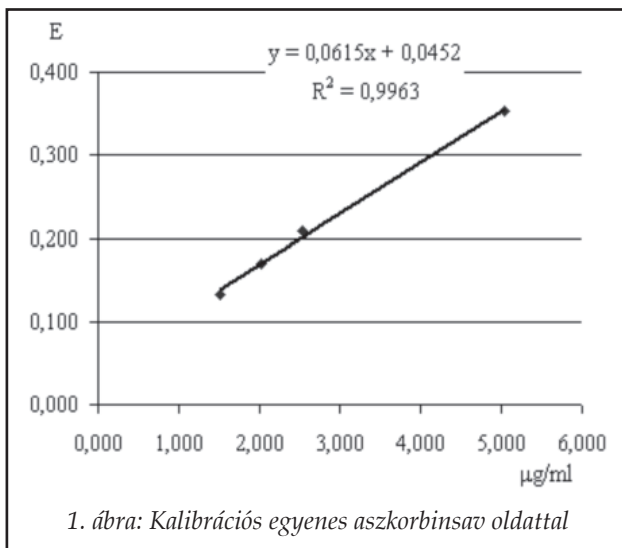
A DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) reagenst és az aszkorbinsavat a Sigma-Aldrich Kft-től, a többi reagenst illetve oldószert pedig a Reanal Rt-től szereztük be. A liofilezést HETOSICC CD 52 készülékkel, a spektrofotometriás méréseket Shimadzu UV-2101 PC spektrofotométerrel végeztük.

Kivonatok készítése.

A mozsárban eldörzsölt drogot (Sz 6,00 g; F 5,80 g) vízzel kivonattuk 15 perces ultrahangos rázattal két részletben végezve, majd az egyesített frakciókból 50,00 ml-es törzsoldat készült. Ebből 5,00-5,00 ml-es mennyiségeket liofileztünk. Meghatároztuk az így nyert liofilizátumok antioxidáns kapacitását, aszkorbinsav- és összpolicifénol-tartalmát. Valamennyi meghatározás során két párhuzamos mintát vizsgáltunk, ezek jelzése Sz1 és Sz2 illetve F1 és F2 volt.

Antioxidáns kapacitás meghatározása DPPH módszerrel

A kivonatok antioxidáns (hidrogén-donor) kapacitását 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) reagens segítségével határoztuk meg [18, 19]. A DPPH szabadgyök abszorbancia maximuma 517 nm. A kivonatokban jelenlevő antioxidáns anyagok (hidrogén-donor molekulák) megkötik a DPPH szabad-

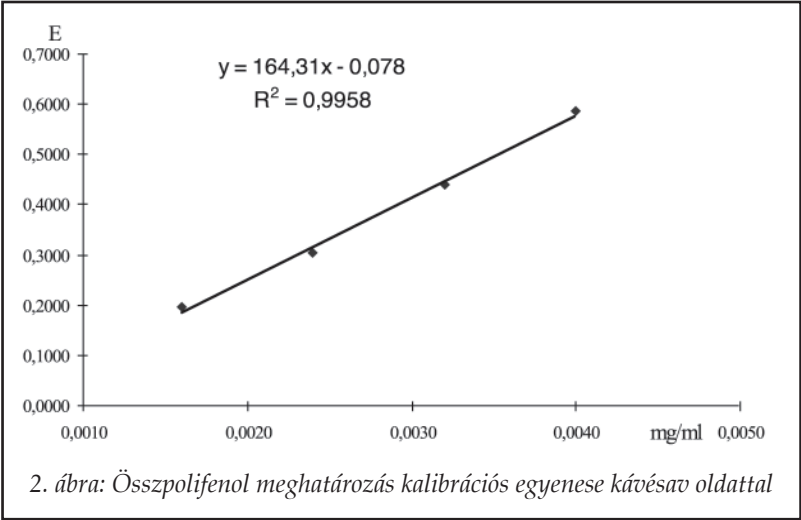


I. táblázat

Alkekengi fructus aszkorbinsav-tartalma

Minta	Minták abszolút szárazanyag-tartalma (átlag %)	Drog aszkorbinsav-tartalma %	Drog aszkorbinsav- tartalma % (abszolút szárazanyagra)	Átlag %
F1	27,25	0,2939	1,0786	1,095
F2		0,3029	1,1115	
Sz1	85,84	0,1542	0,1797	0,162
Sz2		0,1254	0,1462	

Megj: F1, F2 – friss, fagyasztva tárolt minták, Sz1, Sz2 – szárított minták



Aszkorbinsav tartalom meghatározása
Mintáink aszkorbinsavtartalmát a Ph. Hg. VII-ben hivatalos spektrofotometriás módszer szerint határoztuk meg, mely az α, '- dipiridillel való reakción alapul [22].

Összpolifenol-tartalom meghatározása
Az összpolifenol-tartalom meghatározásához 0,01 %-os kávésav oldatból hígítási sorozatot készítettünk, majd elvégeztük a foszfor-molibdén-volf-rámsavas színreakciót. Az oldatok koncentrációja és a mért abszorbancia értékek alapján elkészítettük a kalibrációs egyenest (2. Ábra) [23, 24].

Eredmények

gyököt és ezzel arányosan a minták abszorbanciája csökken. Liofilezett kivonatainkból különböző hígítási sorozatokat készítettünk, ezekhez 0,1 mM etanolos DPPH oldatot adtunk, elélyes osszerázás és 30 percig történő sötétben tárolás után mértük az oldatok abszorbanciáját 517 nm-en. Pozitív kontrollként aszkorbinsavat használtunk.

Lipidperoxidáció gátlás meghatározása

A kivonatok antioxidáns kapacitásának mérése a patkányagy homogenizátumban előforduló telítetlen zsírsavak autooxidációs folyamatának gátlásán alapult. Ehhez Sprague-Dawley (250-300 g) patkányok agyhomogenizátumából preparáltunk egy lipidekben gazdag frakciót. Az ebben található zsírsavak spontán oxidálódnak 37 °C-on 1 órá inkubálás alatt, ezt a folyamatot gátolják a kivonatokban található antioxidáns anyagok. Az inkubáció végén a proteineket 28% triklór-ecetsavval denaturáltuk, majd az oxidációs folyamat termékeit spektrofotometriásan határoztuk meg 532 nm-en. Ehhez főlőslegben hozzáadott tiobarbitursavval 15 percen át 100 °C-on tartottuk a mintákat, háttérként inkubálás nélküli mintát alkalmaztunk [18, 20, 21]. A kísérletek pozitív kontrollja az aszkorbinsav volt.

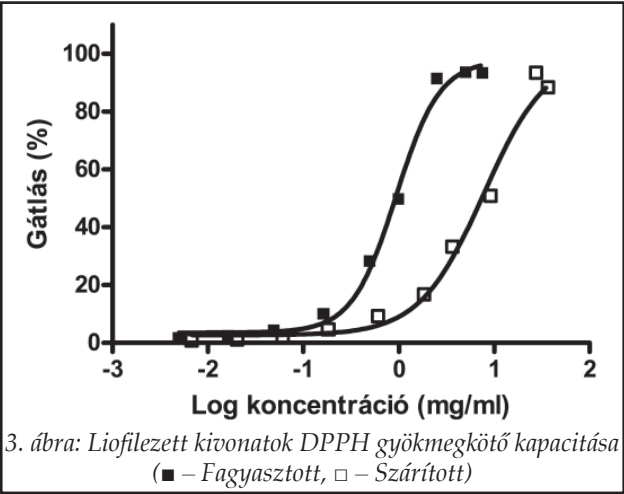
A szárított és a fagyasztott termésekből vizes kivonatokat állítottunk elő, majd liofilezést követően megmértük aszkorbinsav- és összpolifenol-tartalmukat (kávésavban kifejezve). A könnyebb összehasonlítás érdekében az értékeket abszolút szárazanyagra is átszámoltuk. Az eredmények azt bizonyítják, hogy szárítással jelentősen csökken a természetes aszkorbinsav tartalma (I. táblázat), míg az összpolifenol-tartalom csak kismértékben csökken (II. táblázat).

II. táblázat

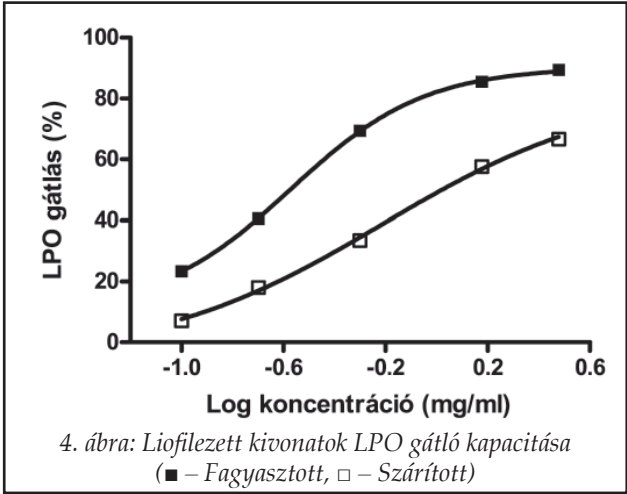
Alkekengi fructus összpolifenol-tartalma

Minta	Drog össz-polifenol tartalma %	Drog össz-polifenol tartalma % (abszolút szárazanyagra)	Átlag %
F1	0,174	0,636	0,605
F2	0,155	0,567	
Sz1	0,419	0,486	0,533
Sz2	0,497	0,576	

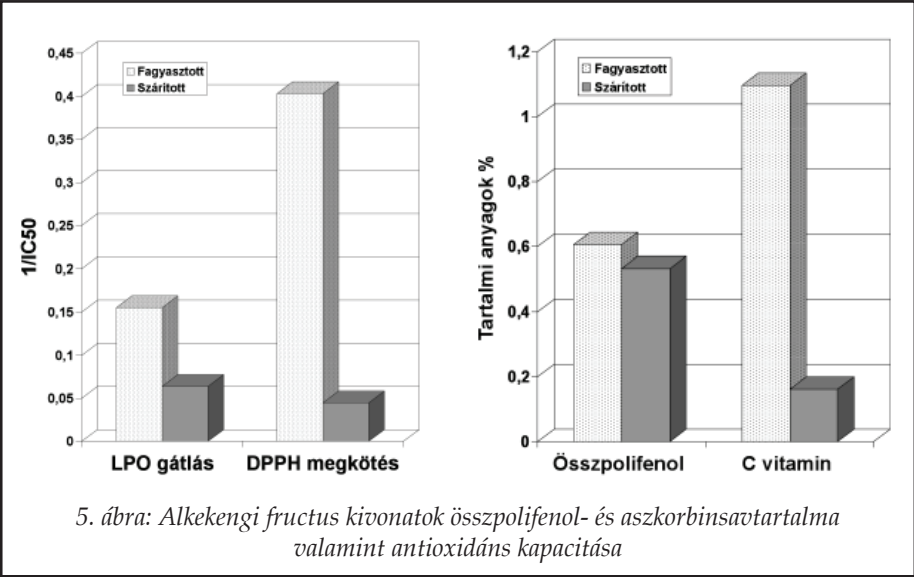
Megj: F1, F2 – friss, fagyasztva tárolt minták, Sz1, Sz2 – szárított minták



3. ábra: Liofilezett kivonatok DPPH gyökmegkötő kapacitása (■ – Fagyasztott, □ – Szárított)



4. ábra: Liofilezett kivonatok LPO gátló kapacitása (■ – Fagyasztott, □ – Szárított)



5. ábra: Alkekengi fructus kivonatok összpolicifenol- és aszkorbinsavtartalma valamint antioxidáns kapacitása

A liofilizált kivonatok antioxidáns aktivitásának jellemzésére két modellt alkalmaztunk: a DPPH szabadgyök megkötést és a LPO gátlást patkányagy homogenizátumon. Mindkét esetben IC₅₀ értékeket számoltunk, pozitív kontrollként aszkorbinsavat használtunk. Amint az a hidrofíl szubsztrátum miatt várható volt, a pozitív kontrollként használt aszkorbinsav DPPH gyökmegkötő hatása jelentősen nagyobb (IC₅₀ = 0,012 mM) mint a

lipidperoxidációt gátló hatása (IC₅₀ = 0,703 mM). Kivonataink esetén is különbség mutatkozott a két módszerrel mért antioxidáns hatásban (3., 4. Ábra és III. Táblázat). A DPPH gyökmegkötő kapacitás a magas C-vitamin tartalmú fagyasztott termék esetén lényegesen jobbnak bizonyult (IC₅₀ 2,48 mg/ml), mint a LPO gátlás (IC₅₀ 6,43 mg/ml). A két érték a szárított termék esetén kisebb különbséget mutatott (DPPH: IC₅₀ 22,33 mg/ml, LPO-gátlás: IC₅₀ 15,59 mg/ml).

Eredmények értékelése, következtetések

A DPPH módszerrel mért antioxidáns aktivitás

III. táblázat

Alkekengi fructus antioxidáns kapacitása (IC₅₀)

Minta	DPPH gyökmegkötés (lioilizátumra)	DPPH gyökmegkötés (abszolút szárazanyagra)	LPO gátlás (lioilizátumra)	LPO gátlás (abszolút szárazanyagra)
Fagyasztott termék	1,05 mg/ml	2,48 mg/ml	0,27 mg/ml	6,43 mg/ml
Szárított termék	8,54 mg/ml	22,33 mg/ml	0,61 mg/ml	15,59 mg/ml
Aszkorbinsav	0,012 mM		0,703 mM	

a termés C-vitamin tartalmával mutat összefüggést, és szárítás során jelentősen csökken. A friss termések magas C-vitamin tartalma (1,095 %) mellett magas antioxidáns hatást tapasztaltunk (IC_{50} 2,48 mg/ml), míg a szárított termésekben a C-vitamin mennyisége lecsökkent (0,162 %), és ezzel arányosan az antioxidáns aktivitás is jelentősen mérséklődött (IC_{50} 22,33 mg/ml).

Kivonataink patkányagy homogenizátumon meghatározott LPO gátlása gyengébb mint DPPH gyökmegkötő kapacitása, és a gyümölcs szárítása során szintén csökkenő tendenciát mutat, bár a friss és szárított gyümölcsből készült kivonat hatásában kisebb különbség mutatkozik. Mivel a kivonatok esetén nincs olyan nagy eltérés a két módszerrel mért aktivitás között, mint a pozitív kontrollként használt aszkorbinsav esetén, bizonyára a kivonatokban található egyéb hatóanyagok is fontos szerepet játszanak.

Eredményeink egyértelműen igazolják a hólyagcseresznye termés vizes kivonatának szabadgyökfogó és lipidperoxidáció gátló hatását, valamint ezeknek a C-vitamin tartalom változásával való összefüggését. Ugyanakkor rámutatnak arra, hogy a konzerválási, illetve feldolgozási technológia nagymértékben befolyásolja ezen aktivitást és a hatásért felelős anyagok mennyiségét.

Köszönetnyilvánítás

Köszönettel tartozunk az MTA-HTMTÖ I/35/2006 és a DOMUS HUNGARICA 2007 pályázatok keretében nyert támogatásért.

IRODALOM

1. Serteser, A., Kargiöglu, M., Gok, V., Baci, Y., Özcan M. M.: *Int. J. Food Sci. Nutr.* 59, 643-651 (2008).
2. Wenzig, E. M., Widowitz, U., Kunert, O., Chrubasik, S., Bucar, F., Knauder, E., Bauer, R.: *Phytomedicine* 15, 826-835 (2008).
3. Hegnauer R.: *Chemotaxonomie der Pflanzen*, Birkhäuser Verlag, Basel und Stuttgart, 1973. VI, 411-432. old.
4. Tomassini, T. C. B., Barbi, N. S., Ribeiro, I. M., Xavier, D. C. D.: *Quimica Nova* 23, 47-57 (2000).
5. Matsuura, T., Kawai, M.: *Tetrahedron Lett.* 22, 1765-1766 (1969).
6. Kawai, M., Matsuura, T.: *Tetrahedron* 26, 1743-1745 (1970).
7. Kawai, M., Makino, B., Yamamura, H., Araki, S., Butsugan, Y., Ohya, J.: *Pharmazie* 57, 348-350 (2002).
8. Sunayama, R., Kuroyangi, M., Umehara, K., Ueno, A.: *Phytochemistry* 34, 529-533 (1993).
9. Asano, N., Kato, A., Oseki, K., Kizu, H., Matsui, K.: *Eur. J. Biochem.* 229, 369-376 (1995).
10. Asano, N.: *Glycobiology* 13, 93-104 (2003).
11. Watson, A. A., Fleet, G., Asano, N., Molyneux, R. J., Nash, R. J.: *Phytochemistry* 56, 265-295 (2001).
12. List P. H., Hörhammer L.: *Hagers Handbuch der Pharmazeutischen Praxis*, Springer-Verlag, Berlin, 1977. VI, 637-639. old.
13. Pârnu C. *Universul plantelor*, Ed. Enciclopedică, București, 1997. 475. old.
14. Van Wyk, B. E., Wink C., Wink M.: *Handbuch der Arzneipflanzen*, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart, 2004. 421. old.
15. Tong, H., Liang, Z., Wang, G.: *Carbohydr. Polym.* 71, 136-323 (2008).
16. Pintea, A., Varga, A., Stepnowski, P., Socaciu, C., Culea, M., Diehl, H. A.: *Phytochem. Anal.* 16, 188-195 (2005).
17. Zöld, E., Esianu, S., Daood, H., Then, M.: *Olaj, Szappan, Kozmetika* 52, 143-144 (2003).
18. Hajdú, Zs., Hohmann, J., Forgó, P., Martinek, T., Dervarics, M., Zupkó, I., Falkay, G., Cossuta, D., Máthé, I.: *Phytother. Res.* 21, 391-394 (2007).
19. Krings, U., Berger, R. G.: *Food Chem.* 72, 223-229 (2001).
20. Zupkó, I., Hohmann, J., Rédei, D., Falkay, G., Janicsák, G., Máthé I.: *Planta Med.* 67, 366-368 (2001).
21. Stocks, J., Gutteridge, J. M., Sharp, R. J., Dormandy, T. L.: *Clin. Sci. Mol. Med.* 47, 215-22 (1974).
22. Magyar Gyógyszerkönyv VII, Medicina Kiadó, Budapest, 1992.
23. Magyar Gyógyszerkönyv VIII, Medicina Kiadó, Budapest, 2003.
24. *European Pharmacopoeia 5th Edition*, Council of Europe, Strasbourg, 2004.

[Érkezett: 2009. december 15.]

FT-IR alakfelismerő technika alkalmazása gyógyszeralapanyagok minőségellenőrzésére

HORGOS JÓZSEF¹, KÓGER PÉTER¹, ZELKÓ ROMÁNA^{2*}

¹Hungaropharma Zrt. Anyagvizsgáló Laboratórium, 1061 Budapest, Bogáncsvirág út 13-15.

²Egyetemi Gyógyszertár Gyógyszerügyi Szervezési Intézet, 1092 Budapest, Hőgyes E. u.7-9.

*e-mail: zelrom@gytk.sote.hu

Summary

Horgos, J., Kóger, P., Zelkó, R.: *Application of FT-IR pattern recognition method for the quality control of pharmaceutical ingredients*

Nowadays infrared spectroscopy and chemometrics have proven their effectiveness for both qualitative and quantitative analyses in different fields like agriculture, food, chemical and oil industry. Furier Transformation Infrared Spectroscopy (FT-IR) combined with Attenuated Total Reflectance (ATR) plate is a fast identification instrument. It is suitable for analysis of solid and liquid phase, too. Associated with chemometrics, it would be a powerful tool for the pharmaceutical wholesalers to detect the insufficient quality of pharmaceutical ingredients. In the present study beside the review of the infra red technology, pharmaceutical ingredients were examined with the help of our spectra library.

Key-words: pattern recognition method, FT-IR spectroscopy, quality control of pharmaceutical ingredients

Összefoglalás

Napjainkra az infravörös spektroszkópia és a sokváltozós adatelemzés (kemometria) bizonyítottan hatékonyak kvalitatív és kvantitatív analízisre olyan különböző területeken, mint az agrár-, az élelmiszer-, a vegyi- és az olajipar. A Furier Transzformációs Infravörös Spektroszkópia (FT-IR) ATR feltét alkalmazásával gyors azonosítást lehetővé tévő műszer. Alkalmazható szilárd és folyadék fázisra is. Kemometriával társítva hatékony eszköz lehet a gyógyszer-nagykereskedelem számára a rossz minőségű gyógyszeralapanyagok kiszűrésére. Jelen tanulmányunkban az infravörös technológia ismertetése mellett, gyógyszer-alapanyagokat vizsgáltunk saját spektrumkönyvtár segítségével.

Kulcs-szavak: alakfelismerő technika, FT-IR spektroszkópia, gyógyszeralapanyagok minőségellenőrzése

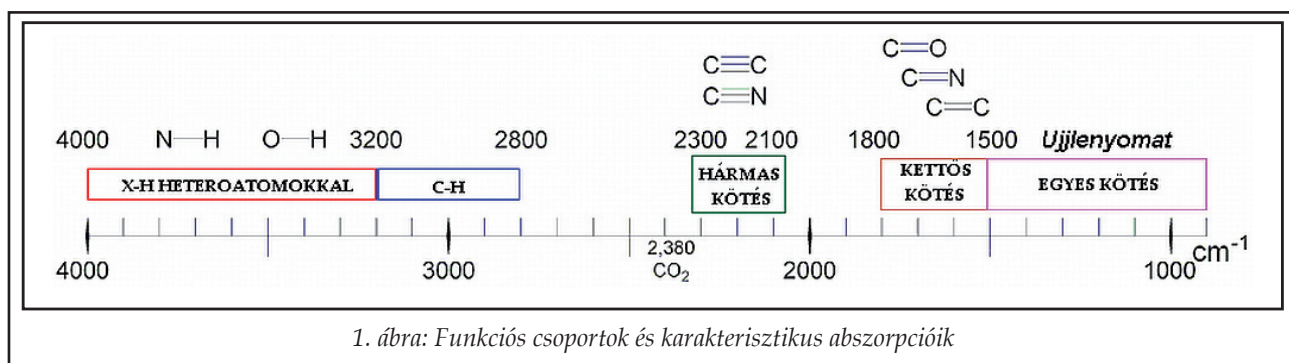
Bevezetés

Az elmúlt évtizedekben történt regionális és tulajdonosi átrendeződések a vegyiparban közvetlen hatást gyakoroltak a gyógyszeralapanyagok körében megszokott gyártási gyakorlatára és globális migrációjára. A vegyipar számára az eladási volumen tekintve nem túl nagy volumenű, azonban az eredményességét jelentősen meghatározó tevékenység a gyógyszeranyagok forgalmazása. Különösen a gyógyszerkészítmények esetében alkalmazott segédanyagok tartoznak ebbe a kategóriába, melyek egyéb iparágban (kozmetikai, édeséipar) nagyságrendekkel nagyobb mennyiségben kerülnek felhasználásra. A gyártási eljárásokat elsősorban ennek a követelményrendszernek megfelelően dolgozzák ki és természetesen a gyógyszeripari minőségbiztosítás követelményrendszerének is meg kell felelniük, ahol jóval kisebb az eladási volumen. A gyógyszeripari felhasználáson kívül a magisztrális gyógyszerkészítés sok esetben külön specifikálja a gyógyszeralapanyagok minőségét.

Infravörös spektroszkópia alkalmazásával az infravörös sugárzás és a gyógyszeranyag kölcsönhatása során bekövetkező jelenségeket áll módunkban tanulmányozni. A minták a rájuk bocsátott infravörös sugarakból különböző komponenseket nyelnek el. Ezek az elnyelési helyek specifikus sajátosságai a vizsgált anyagoknak.

A szelektív abszorpció a molekulák belső mozgásainak következménye. Bohr mutatott rá elsőként arra, hogy a molekulák csak meghatározott energiaértékű állapotokban létezhetnek, melyek a színeképeikből kiszámíthatók. Ezekből az adatokból részletes felvilágosítást kaphatunk az elektronok mozgásáról, valamint az atomok rotációjáról (forgásáról) és vibrációjáról (rezgéséről) a molekulán belül.

A felvett spektrumok értékelését először az intenzív és közepes intenzitású sávok asszignációjával célszerű kezdeni. Első lépésként az OH-, NH-, CH-vegyértékrezgések tartományának (3600-2800 cm⁻¹) vizsgálata szükséges, ezen csoportok jelenlétének, illetve hiányának eldöntésére. Az alifás és aromás CH- csoportok a legtöbb eset-



ben nagyon jól felismerhetők és megkülönböztethetők. A telítetlen csoportok CH-vegyértékrezgése átlapolhatnak az aromás CH-vegyértékrezgési tartományon, ebben az esetben a deformációs rezgések segítik a differenciálást.

2850-1850 cm^{-1} tartományban a karboxilcsoportok, a hidrokloridok, SH-csoportok, hármás és kumulált kettős kötések, valamint az alfa-aminosavak okoznak elnyelést.

1850-1470 cm^{-1} között a kettős kötések, aromás vázrezgések és NH-deformációs rezgések abszorbeálnak. Az itt megjelenő sávok alapján feltételezett csoportok (pl.: karbonil-, aromás-, amin-, nitro-csoportok stb.) kiegészítő sávjait a biztonságosabb döntés érdekében a nagyobb, illetve a kisebb hullámszámok tartományában is szükséges megnézni (1. ábra).

A spektrum 1500-650 cm^{-1} között a legbonyolultabb. Ebben a tartományban a vegyérték-, deformációs és csoportrezgések változatos sokasága jelentkezik. Referenciamintával való összevetés esetén ennek a tartománynak az egyezősége a két anyag azonosságát jelenti. Ebből ered az elnevezés is: „ujjlenyomat tartomány”. Az itt megjelenő sávok frekvenciáit a molekula többi része erőteljesen megváltoztatja. Tehát ez a tartomány jobban jellemző az illető molekulára, mint a nagyobb hullámszámok tartománya, amelyekben a megjelenő sávok általában egy-egy jellemző kötéshez rendelhetők, és a molekula többi része csekély hatású rájuk [1].

Az intenzív és közepes intenzitású sávok eredetének igazolása után térhetünk át a kis intenzitású sávok vizsgálatára. Ebben az esetben megnehezíti a dolgunkat a hasonló intenzitással jelentkező kombinációs sávok és felhangok sokaságának jelenléte, melyek nagyon nehezen különböztethetők meg a gyenge alapsávoktól.

Az infravörös spektroszkópiában használt spektrofotométerek elvi felépítése azonos a látható és ultraibolya spektrofotométerekével. Ennek megfelelően a következő egységekből épülnek fel: fényforrás, mintatartó, prizmas vagy rácsos mono-

kromátor, fénymérő egység, regisztráló rész.

A Fourier-transzformációs berendezésekben (FT-IR) a fényforrás polikromatikus sugárzását nem bontjuk fel hullámhossz szerinti alkotóira, mint a prizmat, vagy a rácsot alkalmazó diszperziós készülékekben, hanem a teljes spektrumot egyszerre a vizsgált anyagra bocsátva egy úgynevezett interferogramot veszünk fel, majd ebből Fourier-transzformációval kapjuk a szokásos energiaspektrumot. Az interferogramot úgynevezett interferométerben állítjuk elő, amely az FT-IR berendezések legfontosabb egysége.

A Fourier-transzformációs készülékek általában egyutas felépítésűek, így a háttér és a minta spektrumát időben egymás után kell felvenni.

A háttér spektruma a fényforrás hullámhossz (hullámszám) szerinti intenzitás-eloszlását adja, a megfelelő helyeken csökkentve a levegő H_2O és CO_2 tartalmának, az oldószernek és a küvetta anyagának elnyelésével. A minta spektrumában a háttér felsorolt elnyelési sávjai mellett megjelennek a mintát alkotó komponensek elnyelési sávjai is. A transzmittancia (T) hullámszám spektrumot úgy kapjuk, hogy a számítógép minden egyes hullámszám értékénél a mintaspektrum ($I(\lambda)$) és a háttér spektrum ($I_0(\lambda)$) megfelelő intenzitásainak hányadosát képezi: $T = [I(\lambda)/I_0(\lambda)] \cdot 100\%$

A minta-előkészítés többféle módon történhet. A legszélesebb körben alkalmazott módszer KBr pasztilla készítése. Ebben az esetben a vizsgálni kívánt minta és kálium-bromid achát mozsárban történő homogenizálását követően általában 7 t préstomeget alkalmazva pasztillát készítünk, majd a spektrofotométer fényútjába helyezzük.

Másik gyakran alkalmazott, minta-előkészítést kevésbé igénylő módszer ATR feltét installálása a spektrofotométerbe. Ebben az esetben cink-szele-nid gyémántra kell (a legtöbb esetben előkészítés nélkül) felvinni a mintát, és megfelelő (minden mérés esetében azonos) nyomatékkal célszerű le-szorítani a gyémánt felületére.

Gyakran alkalmaznak sokváltozós adatelem-

zést [2] a nem megfelelő minőségű gyógyszeranyagok kiszűrésére. Alakfelismerő technikák alkalmazásával specifikusabb spektrumkönyvtárak építésére nyílik lehetőség. Rokon gyógyszeranyagok és esetleges bomlástermékek meglétét illetően is szükséges a kemometria [3, 4] alkalmazása. A funkciós csoportokra jellemző spektrumtartományok második deriváltját véve egy térbeli koordináta-rendszer tengelyeit alkotják, ahol a felvett referenciaspektrumok a szórásuknak megfelelően térbeli alakzatként jelennek meg. Alapvető követelmény, hogy ezek semmi esetben se fedjenek át egymással, mivel így csökkentik a szelektív felismerés biztonságát.

Spektrumkönyvtár felépítése, protokoll

A könyvtár építésének célja a gyógyszer-alapanyagok azonosítása, FT-IR eljárással, az egyes anyagokra vonatkozó gyógyszerkönyvi előírások szerint. Referencia anyagként, amiből a könyvtár készült, régebbi vizsgálataink során, öt plusz egy évre visszamenőleg eltett, nem lejárt, különböző gyártási számú, azonossági vizsgálatoknak megfelelt mintákat használtunk fel. Az egyes anyagok mappái minimum három spektrumot kell, hogy tartalmazzanak. Abban az esetben, ha az adott anyagból a fentebb említett követelmények értelmében kevesebb, mint három minta áll rendelkezésre, elfogadtuk az azonos gyártási számmal rendelkező anyagok többszöri mérését.

Méréseinket PerkinElmer Spektrum BX típusú FT-IR készülékkel, Pike MIRacle – Single-reflection

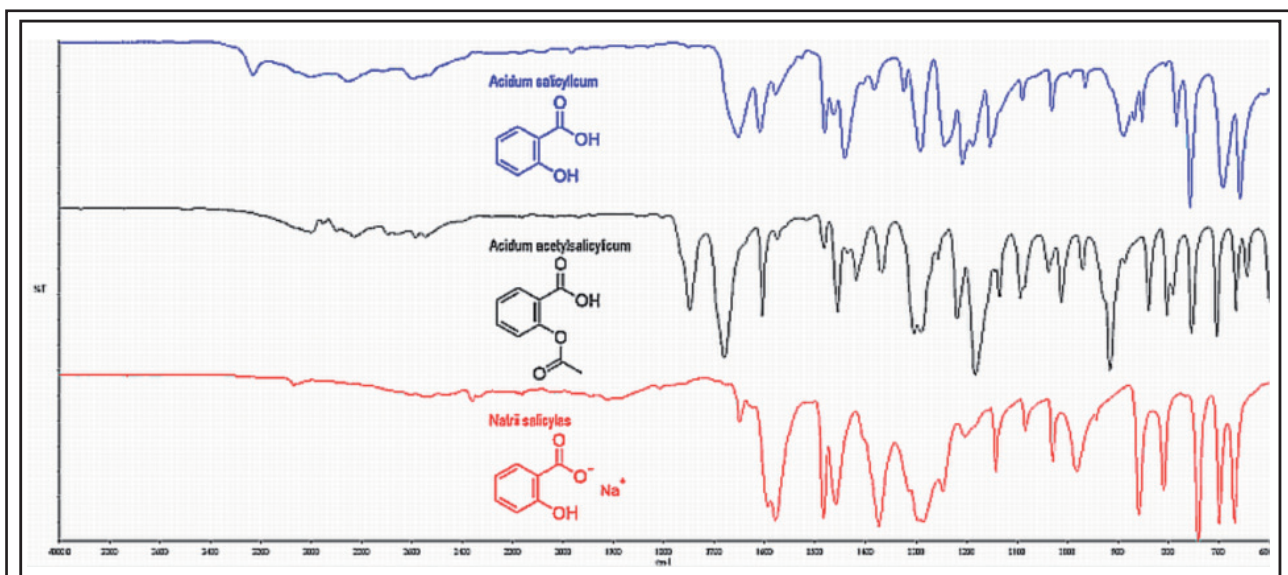
ATR (ZnSe kristály) feltétellel végeztük. Tapasztalataink szerint megbízható vizsgálatokat 4000 és 600 cm^{-1} között érthetünk el, így erre a tartományra terjesztettük ki a spektrumok felvételét, a Ph. Eur. gyógyszerkönyvben előírt 4000–670 cm^{-1} helyett. Ezzel plusz értékelhető csúcsokat nyertünk, ami növelte a módszer értékelhetőségét.

A felbontóképességet 4 cm^{-1} -ként, 1 cm^{-1} -es intervallummal adtuk meg, egy mérés során nyolc spektrum átlagát értékeltük, transzmissziós minimumok helye és relatív mérete szerint. Az egyes spektrumok korrelációját 98%-ban határoztuk meg.

Minden újabb felvitt mintát megelőzően háttér-spektrum felvételével győződünk meg a cink-szelenid gyémánt felületének tisztaságáról.

Ha szilárd anyagoknál a transzmissziós minimumok helye eltért az ugyanazon, különböző gyártási számú anyagok között, a mintákat, az adott gyógyszerkönyvi cikkelyben leírtak szerint kezeltük, hogy azonos módszerrel kristályosodjanak vagy jelenjenek meg, és megismételtük a spektrumok felvételét. Egyéb minta-előkészítések között főként a mérésbe bezavaró kristályvíz eltávolítása említhető meg, melyet az anyag gyógyszerkönyvi cikkelyében leírt módon történő szárításával zártunk ki. (Egyes szilárd anyagoknál, mint például a *Camphora racemica* esetében, a megadott minta-előkészítést mellőztük, ahol az előírt paraffines szuszpenzió spektruma nem korrelál a felvett minták között, ellentétben a kezeletlen anyag görbéivel.)

Az azonosítandó minták vizsgálata azonos kö-



2. ábra: *Acidum salicylicum*, *Acidum acetylsalicylicum* és *Natrii salicylas* gyógyszeranyagok infravörös spektrumai

1. táblázat

Acidum acetylsalicylicum korrelációja Acidum salicylicum-mal

File:	Correlation:	Result:	Description:
0807_1317.sp	0.1936	Fail (< =0.980000)	Acidum salicylicum
0608_1408.sp	0.1899		Acidum salicylicum
0707 1301.sp	0.1881		Acidum salicylicum
File:	Correlation:	Result:	Description:
0807_1317.sp	0.1910	Fail (< =0.980000)	Acidum salicylicum
0608_1408.sp	0.1872		Acidum salicylicum
0707 1301.sp	0.1858		Acidum salicylicum
File:	Correlation:	Result:	Description:
0807 1317.sp	0.1870	Fail (< =0.980000)	Acidum salicylicum
0608_1408.sp	0.1834		Acidum salicylicum
0707 1301.sp	0.1820		Acidum salicylicum

Megjegyzés: A második párhuzamos esetben tapasztaltunk 8,4%-os egyezőséget.

2. táblázat

Natrii salicylas korrelációja Acidum salicylicum-mal

File:	Correlation:	Result:	Description:
0705_1215.sp	0.0807	Fail (< =0.980000)	Acidum salicylicum
0608_1408.sp	0.0803		Acidum salicylicum
0805_1222.sp	0.0789		Acidum salicylicum
File:	Correlation:	Result:	Description:
0608_1408.sp	0.0840	Fail (< =0.980000)	Acidum salicylicum
0705_1215.sp	0.0832		Acidum salicylicum
0805_1222.sp	0.0820		Acidum salicylicum
File:	Correlation:	Result:	Description:
0705 1215.sp	0.0797	Fail (< =0.980000)	Acidum salicylicum
0608_1408.sp	0.0774		Acidum salicylicum
0805_1222.sp	0.0761		Acidum salicylicum

Megjegyzés: Az első párhuzamos esetén 19,36%-os egyezés volt megfigyelhető. A sóképzés is már olyan változást eredményez ebben a módszerben, ami lehetővé teszi a két anyag megkülönböztetését.

rülmények között és ugyanazon protokoll szerint történik, mint a referencia minták mérése.

Eredmények kiértékelése

Acidum salicylicum, Acidum acetylsalicylicum és Natrii salicylas szerkezeti képletüket tekintve rokon gyógyszeranyagok infravörös spektrumait vettük össze (2. ábra). A spektrális eltérések az eltérő funkciós csoportoknak, illetve azok alapszerkezetbeni módosításaiknak köszönhetőek. A szalicilsav spektrumainak mappáját referenciaként alkalmazva, software segítségével összevetettünk az acetil-szalicilsav (1. táblázat) és nátrium szaliclát (2. táblázat) három különböző gyártási számú spektrumait az abszcissa függvényében. Az eredmé-

nyek alapján elmondható, hogy a szalicilsav, amely keresztszennyezésként gyakran előforduló vegyület – eddigi beérkezéseink trendanalízisét tekintve –, nem fordult elő olyan mennyiségben a másik két gyógyszeranyagban, hogy torzította volna a spektrumkönyvtárunk felismerési szelektivitását.

IRODALOM

1. Kissné Erős K.: Az infravörös spektroszkópia analitikai alkalmazása, Műszaki Könyvkiadó, Budapest 1974.
2. Horvai Gy.: Sokváltozós adatelemzés (kemometria), Nemzeti Tankönyvkiadó, Budapest, 2001.
3. Roggo, Y., Chaluz, P., Maurer, L., Lema-Martinez, C., Edmond, A., Jent, N.: J. Pharm. Biomed. Anal. 44 683–700. (2007).
4. de Peindera, P., Vredenburgt, M.J., Visserc, T., de Kaste, D.: J. Pharm. Biomed. Anal. 47 688–694. (2008).

ELŐFIZETŐINKNEK

Gyógyszerészet

Tájékoztatjuk kedves Kollégáinkat, hogy

- a Gyógyszerészetre 2009-ben előfizetéssel rendelkezők a 2010. évre vonatkozó számlát előreláthatólag január közepéig megkapják;
- a Gyógyszerészet 2010. évi előfizetési díja változatlanul 21000 Ft + 5% áfa, egy példány ára: 1750 Ft + 5% áfa;
- 2010-ben is élhetnek a Távoktatásban résztvevők számára biztosított előfizetői kedvezménnyel.

Acta Pharmaceutica Hungarica

Tájékoztatjuk kedves Kollégáinkat, hogy

- az Acta Pharmaceutica Hungarica c. folyóiratra 2009-ben előfizetéssel rendelkezők a 2010. évre vonatkozó számlát előreláthatólag január közepéig megkapják;
- az Acta Pharmaceutica Hungarica 2010. évi előfizetési díja változatlanul 5133 Ft + 257 Ft + áfa.

Kérjük, hogy az előfizetői adatokban történt változásokat mielőbb juttassák el Polonyi Adrienn részére (tagdij@mgyt.hu; fax: 266-9433, 483-1465; levelezési cím: Magyar Gyógyszerésztudományi Társaság, 1085 Budapest, Gyulai Pál u. 16.)

ÚJ ELŐFIZETŐKNEK

Új Gyógyszerészet és Acta Pharmaceutica Hungarica előfizetésekre is van lehetőség a fenti feltételek figyelembe vételével.

Előfizetési igényeiket minél előbb juttassák el Polonyi Adrienn részére

(tagdij@mgyt.hu; fax: 266-9433, 483-1465;

levelezési cím: Magyar Gyógyszerésztudományi Társaság,

1085 Budapest, Gyulai Pál u. 16.)

Szerzői útmutató

Az *Acta Pharmaceutica Hungarica* a gyógyszerészeti tudományok területéről közöl eredeti, kísérletes kutatómunka eredményeit bemutató közleményeket, de fórumot biztosít összefoglaló és nem kísérletes (történeti, szervezési) tanulmányok, valamint Ph.D. és D.Sc. értekezések téziseinek közlésére is.

Hazai kutatóhelyek vagy olyan szerzői kollektívák magyar nyelvű kéziratait közöljük, ahol az első szerző magyar. Lehetőség van külföldi folyóiratban már megjelent, kiemelkedő jelentőségű közlemények magyar nyelvű változatának közlésére is, az első megjelenés időpontjától számított egy éven belül, az első közlés bibliográfiai adatainak megjelölésével.

Közlésre elfogadunk:

1. *Összefoglaló közleményeket*, legfeljebb 25 gépelt oldal terjedelemben. Ezek megírására általában a szerkesztőbizottság felkérésére kerülhet sor, illetve az erre irányuló szándékot célszerű előzetesen egyeztetni a szerkesztőbizottsággal.

2. *Közleményeket*, legfeljebb 12 gépelt oldal terjedelemben. Az ábrák és táblázatok együttes száma maximálisan 10 lehet.

3. *Rövid közleményeket*, legfeljebb 4 gépelt oldal terjedelemben (összesen legfeljebb 4 ábra és táblázat). A közlemények megjelenési sorrendjében a rövid közlemények előnyt élveznek.

4. *Ph.D. értekezések összefoglaló közleményét*, legfeljebb 25 oldal terjedelemben.

Felelősen nagy terjedelmű dolgozatok esetében a szerkesztőbizottság fenntartja magának a jogot arra, hogy a lektori javaslatok alapján a szerzőt felkérje dolgozatának rövid közleménnyé való átdolgozására.

A kézirat elkészítésének módja:

a) Általános szempontok

A kéziratot elektronikusan, csatolt file-ként kell a felelős szerkesztő e-mail címére elküldeni: zelrom@gytk.sote.hu

A táblázatokat külön file-ként, címmel és római sorszámmal ellátva készítjük.

Az ábrák és egyéb illusztrációk olyan színvonalon készüljenek, hogy azok nyomdai szerkesztésre alkalmasak legyenek. Az ábrákat külön file-ként kell csatolni, az elnevezésben az ábraszámokat fel kell tüntetni. Javasolt formátum: jpg, tiff.

Az irodalmi hivatkozásokat külön, a hivatkozások sorrendjében közöljük. A hivatkozási számot a szövegben tegyük szögletes zárójelbe.

A hivatkozások módja:

Folyóiratcikk:

1. Revelle, L. K., Musser, S. M., Rowe, B. J., Feldmann, I. C.: *J. Pharm. Sci.* 86, 631-634 (1997)

Szakkönyv:

2. Gyarmati L., Rácz I., Plachy J., Csontos A.: A gyógyszer-technológia és biofarmácia kémiai ellenőrző módszerei. Medicina, Budapest, 1982. 147-152. old.

Könyvfejezet:

3. Ariens, E. J.: Racemates – an impediment in the use of drugs and agrochemicals. In: Krstulovic, A.M. (ed): *Chiral Separations by HPLC*. Ellis Horwood, Chichester, 1989. pp. 31–68.

Szabadalom:

4. *U.S. Pat.* 3 425 422 (1984)

Konferencia-előadás:

5. Duncan, R.: Polymer therapeutics: Targeting drugs and genes to tumours. 6th European Congress of Pharmaceutical Sciences. Eur. J. Pharm. Sci. 11, (2000) S1-S2.

Internetes hivatkozás: teljes URL-cím a keresőablakból ki-másolva és az elérés dátuma az alábbiak szerint:

6. <http://www.eum.hu/main.php?folderID=3746&objectID=6000268> [2008. 08. 05.] Az Egészségügyi Minisztérium szakmai protokollja - Gyógyszeres fájdalomcsillapítás és gyulladásgátlás a reumatológiai betegségekben.

Az idegen orvosi kifejezések helyesírásában Fábíán P. és Magasi P.: Orvosi helyesírási szótár. Akadémiai Kiadó, 1992. legyen az irányadó, a kémiai kifejezések nevezéktanára és helyesírására vonatkozóan pedig Erdey-Grúz T. és Csányi P.: A kémiai elnevezés és helyesírás szabályai. Akadémiai Kiadó, 1972.; F. Csányi P., Fábíán P. és Hőnyi E.: Kémiai helyesírási szótár. Műszaki Kiadó, 1982.; valamint F. Csányi P. és Simándi L.: Szervetlen kémiai nevezéktan. Magyar Kémikusok Egyesülete, 1995.

A mértékegységek megjelölésében az SI-mértérendszer szabályai az irányadók.

b) A kézirat felépítése

A kézirat szerkesztéséhez a következő beosztást kérjük:

A *dolgozat címe* (esetleg alcíme).

A *szerző(k) teljes neve* (tudományos fokozatok nélkül), a szerkesztőséggel kapcsolatot tartó szerző neve csillaggal megjelölve.

A szerző(k) *munkahelye* teljes postai címeikkel, valamint a *levelező szerző e-mail címe*.

A *dolgozat magyar nyelvű összefoglalása*.

A magyar nyelvű összefoglalás terjedelme a dolgozat hosszától függően 10-20 sor legyen és az általános megfogalmazások kerülésével tartalmazza a dolgozat legfontosabb, konkrét megállapításait.

Kulcs-szavak: A dolgozat tartalmára utaló, maximum 5 kulcs-szó megadása.

A dolgozat *címe angol nyelven*, a szerző(k) neve (keresztnevek rövidítve).

Angol nyelvű összefoglalás.

Bevezetés, amely tartalmazza a munka célkitűzéseit, valamint a vizsgálatok előzményeiből és irodalmi háttéréből annyit, amennyi a dolgozat megértéséhez és értékeléséhez szükséges.

Key-words: A dolgozat tartalmára utaló, maximum 5 kulcs-szó angol nyelvű fordítása.

Kísérleti rész, amely tartalmazza a felhasznált eszközök és anyagok, valamint a kidolgozott módszerek pontos leírását.

Eredmények.

A dolgozatok csak a leírt módszerek teljesítőképességét megfelelően dokumentáló adatokkal fogadhatók el. Ezek megadásánál használjuk a matematikai statisztika korszerű módszereit.

Az eredmények értékelése.

Ábracímek.

Következtetések. Az utóbbi két fejezet összevonható az Eredmények c. fejezettel.

Az esetleges **köszönetnyilvánítások**.

Irodalomjegyzék.

